

2016 年度 博士学位論文

N 型カルシウムチャネル阻害を作用機序  
とする神経障害性疼痛治療薬の合成研究

Synthetic studies on N-type calcium channel  
blockers for the treatment of neuropathic pain

東京農工大学大学院  
工学府 生命工学専攻  
平成 27 年度入学 荻山 隆  
指導教官 長澤 和夫

## 略語表

Ac	acetyl
Ala	alanine
AM	ante meridiem
AMMC	3-[2-( <i>N,N</i> -diethyl- <i>N</i> -methyl amino)-ethyl]-7-methoxy-4-methylcoumarin
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
Aq.	aqueous
Asp	aspartic acid
ATP	adenosine triphosphate
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Bu	butyl
CCI	chronic constriction injury
CEC	3-cyano-7-ethoxycoumarin
CFA	complete Freud's adjuvant
CGRP	calcitonin gene-related protein
CHO	Chinese hamster ovary
CI	chemical ionization
CIOMS	council for international organizations of medical sciences
Conc.	concentrated
CYP	cytochrome P450
d	day(s)
DCE	dichloroethane
DHP	dihydropyridine
DIBAH	diisobutylaluminumhydride
D-MEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide

DRG	dorsal root ganglion
EC <sub>50</sub>	half maximal effective concentration
ED <sub>50</sub>	median effective dose
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
EGTA	ethylene glycol tetraacetic acid
EI	electron ionization
ESI	electrospray ionization
Et	ethyl
FAB	fast atom bombardment
FBS	fetal bovine serum
FLIPR	fluorescence imaging plate reader
Glu	glutamic acid
h	hour(s)
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
hERG	human ether-a-go-go related gene
HIV	human immunodeficiency virus
HLM	human liver microsomes
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HTS	high-throughput screening
HVA	high-voltage activated
<i>i</i>	iso
IASP	international association for the study of pain
IC <sub>50</sub>	half maximal inhibitory concentration
IP3	inositol trisphosphate
it	intrathecally
JP	Japanese pharmacopoeia
KO	knock-out
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry
Leu	leucine

LVA	low-voltage activated
Me	methyl
MFC	7-methoxy-4-trifluoromethylcoumarin
MIA	mono-iodoacetate
MMFF94x	Merck molecular force field 94x
MOE	molecular operating environment
MOPAC	molecular orbital package
MS	mass
MW	molecular weight
<i>m/z</i>	mass to charge ratio
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NMR	nuclear magnetic resonance
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drugs
N. T.	not tested.
OA	osteoarthritis
PCT Int. Appl.	patent cooperation treaty international application
PDB	protein data bank
Ph	phenyl
Phe	phenylalanine
PK	pharmacokinetics
PM	post meridiem
PM6	parameterized model number 6
po	per os
Pr	propyl
PS	penicillin-streptomycin solution
QOL	quality of life
QSAR	quantitative structure–activity relationship
quant.	quantative
RCSB	research collaboratory for structural bioinformatics
RTZ 10- $\{2-[(2R)-1\text{-methylpiperidin-2-yl}]\text{ethyl}\}-2\text{-(methylsulfanyl)-10}H\text{-phenothiazine}$	

rt	room temperature
sat.	saturated
SEM	standard error of the mean
Ser	serine
SNL	spinal nerve ligation
SNRI	serotonin norepinephrine reuptake inhibitor
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor
<i>t</i>	tertiary
TCA	tricyclic antidepressant
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TMEDA	<i>N,N,N,N</i> -tetramethylethylenediamine
Tris-base	2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol
TRP	transient receptor potential
Tyr	tyrosine
UV	ultraviolet
VCD	vibrational circular dichroism
VDCC	voltage dependent calcium channel
WSCD	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide

## 目次

### 第一章 緒論

第一節	神経障害性疼痛の定義、疫学	1
第二節	N型カルシウムチャネルと痛み伝達	2
第三節	低分子N型カルシウムチャネル阻害剤創製の取り組み	7
第四節	本研究の概要	12

### 第二章 hERG 阻害を回避したリード化合物(1*S*)-(1-シクロヘキシル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル)-2-[[ (1-ヒドロキシシクロヘキシル)メチル]アミノ}エタノンの創製

第一節	はじめに	14
第二節	hERG 阻害回避の合成方針	15
第三節	1-シクロヘキシル-3,4-テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成	16
第四節	薬理評価と考察	17
第五節	第二章まとめ	22

### 第三章 2-[[ (1-ヒドロキシシクロヘキシル)メチル]アミノ}-(1*R*)-(1-イソプロピル-6-メトキシ-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル)エタノンの創製

第一節	はじめに	23
第二節	CYP2D6 および 3A4 阻害回避の合成方針	23
第三節	1-置換テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成	25
第四節	薬理評価と考察	29
第五節	第三章まとめ	37

第四章 2-[[ (2*R*)-2-ヒドロキシプロピル]アミノ]-1-[(1*S*)-8-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル] )エタノンの発見

第一節	はじめに	38
第二節	CYP2D6 および 3A4 阻害回避の合成方針	38
第三節	テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成	38
第四節	薬理評価と考察	41
第五節	第四章まとめ	54

第五章 総括 55

実験の部 57

参考文献および脚注 118

謝辞 133

## 第一章 緒論

### 第一節 神経障害性疼痛の定義、疫学

神経障害性疼痛は 2011 年に IASP(国際疼痛学会)により、「Pain caused by a lesion or disease of the somatosensory nervous system /体性感覚神経系の病変や疾患によって引き起こされる痛み」<sup>1</sup>と定義がなされているが、本定義の表現しがたい不明瞭さは疾患の病態や原因となる疾患が複雑かつ多様であることをよく表している。神経障害性疼痛は、代謝性(糖尿病など)、外傷性、感染性(HIV やヘルペスなど)、虚血性疾患(脳卒中など)、免疫性(多発性硬化症など)などの様々な疾患に起因し、結果として生じる疼痛であり、刺激に依存しない自発痛(刺激のない状況下で焼けるような、うずくような、引き裂かれるようななどと表現される痛み)と刺激によって惹起される感覚過敏(軽微な痛み刺激に対して感じる激しい痛み)やアロディニア(通常なら痛みを感じない刺激によって感じる痛み)といった臨床症状を共通した特徴とする。またこれらの疼痛症状以外にも、ジセステジア(不快さを伴う異常感覚)やパレステジア(不快ではない異常感覚)といった知覚異常を随伴することも神経障害性疼痛に共通した臨床的特徴である<sup>2</sup>。

神経障害性疼痛は薬剤の効果が限定的なうえに、原因となった疾患が治癒しても疼痛症状が消失しないため罹患期間が遷延化しやすい疾患である。また、遷延化それ自体が不眠、不安、抑うつ等の痛み認知に悪影響を及ぼす症状を誘引するために、悪循環が形成されさらなる疼痛病態の悪化をもたらす。このように目下の神経障害性疼痛患者の多くが、負のスパイラルに苦しんでおり、クオリティーオブライフ(QOL)は大きく損なわれた状況下にある<sup>1b, 3</sup>。近年の調査によれば、神経障害性疼痛患者は人口の 6.9%から 10%に上ると推計され、本邦でも少なくとも 500 万人の患者がいるとされている。また先進国においては、高齢化や生活習慣病の蔓延に伴って、帯状疱疹、糖尿病、脳卒中などを背景とする神経障害性疼痛患者は今後さらに増加していくと予想されている<sup>4</sup>。

神経障害性疼痛は侵害受容性疼痛に有効な NSAIDs や術後痛や癌性疼痛など様々な疼痛に対して用いられているオピオイドが効きにくい疼痛である。現在、国際疼痛学会、日本ペインクリニック学会などから複数のガイドラインが発表されているが、いずれも第一、第二選択薬として、特定の抗鬱薬(SNRI および TCAs)や抗てんかん薬( $\alpha 2\delta$ 阻害剤)が推奨されている(Figure.1)<sup>5, 6</sup>。しかしながら、神経障害性疼痛は、前述のよ



うに複数の原因が重なり合って発症していることが多く、これらの薬剤の効果は限定的なものとなっていることに加え、各薬剤の副作用による忍容性の低さも大きな問題となっている。そのため、40%から60%の患者は現行薬物治療によって十分な治療効果を得られていないとされている<sup>6</sup>。つまり、神経障害性疼痛治療のため前述の薬剤とは作用メカニズムの異なる新規な治療薬や新たな治療法の開発が望まれている。

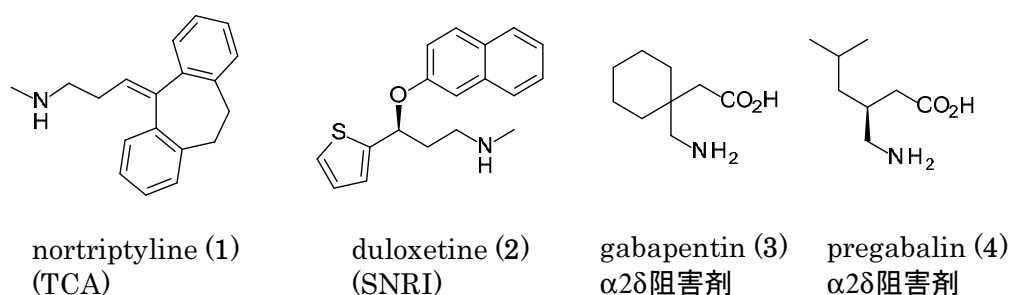


Figure 1. 神経障害性疼痛治療に用いられている代表的な薬剤

## 第二節 N型カルシウムチャネルと痛み伝達

カルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) は、細胞内の一過的な濃度変動を通して、収縮、分泌、神経伝達、細胞死、遺伝子発現などの様々な生理機能の調節や発現を行う重要なセカンドメッセンジャーである。細胞内カルシウム濃度は、定常状態において細胞外濃度 (1–2  $\mu\text{M}$ ) の1万分の1以下 (約 100 nM) に厳密に保たれているが、様々な刺激にตอบสนองして一過的に数百 nM 程度に上昇する。この一過的な細胞内カルシウム濃度上昇は、細胞膜上に存在する電位依存性カルシウムチャネル、受容体作動性カルシウムチャネル (グルタミン酸受容体など)、容量依存性カルシウムチャネル (TRP チャネルなど) や細胞内小胞体上に存在するカルシウム放出チャネル (IP<sub>3</sub> 受容体やリアノジン受容体) といった様々なカルシウムチャネルによって制御されている<sup>7</sup>。

電位依存性カルシウムチャネルは、神経細胞、グリア細胞、筋肉細胞など、すべての興奮性細胞の細胞表面に存在し、チャネルが開くとカルシウムイオン濃度依存的に細胞内へカルシウムイオンの流入を促す。電位依存性カルシウムチャネルは、チャネル本体を形成する主要サブユニットである $\alpha 1$  サブユニットと発現レベルやチャネル機能を調節する付属サブユニットである $\alpha 2\delta$ 、 $\beta$ および $\gamma$ サブユニットによって主に構成される。 $\alpha 1$  サブユニットは、4つの高い相同性を有するドメイン (I–IV) からなり、各ドメインには6つの膜貫通セグメント (S1–S6) がある。S4 セグメントは正電荷に荷電しており、

電位センサーとして中心的な役割を担っている。また S5、S6 セグメントは、チャンネルポアを形成しイオン透過路を構成する。この S5 と S6 セグメントの間には、P loop と呼ばれるカルシウムイオンを選択的に透過させるイオン選択性フィルターとして機能する配列が存在する (Figure.2) 8。

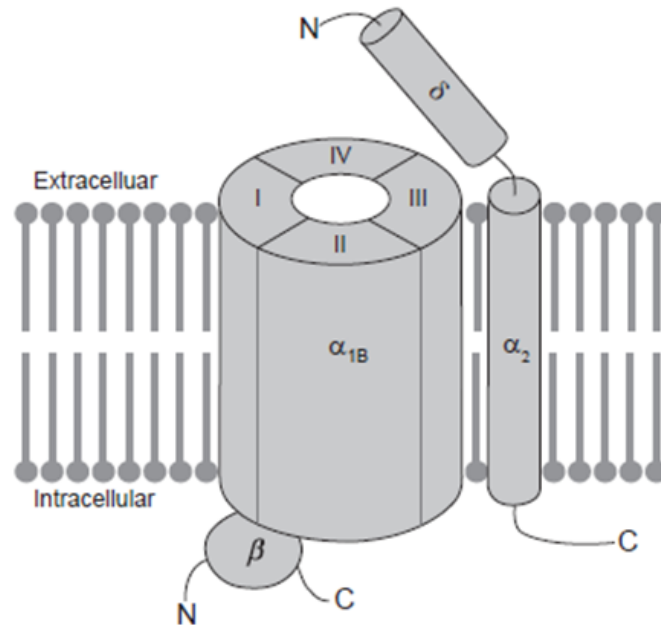


Figure 2. 電位依存性 N 型カルシウムチャンネルの構造模式図 12b

電位依存性カルシウムチャンネル (VDCCs) は、一般に電気生理学・薬理学的性質を決定する  $\alpha_1$  サブユニットの種類と活性化電位閾値によって分類されており、高閾値型 (HVA: high-voltage activated type) カルシウムチャンネルである L 型 (4 種)、P/Q 型、N 型、R 型と低閾値型 (LVA: low-voltage activated type) カルシウムチャンネルである T 型 (3 種) の 10 種類が知られている (Table 1)。さらにそれぞれのサブタイプの電位依存性カルシウムチャンネルが Table 1 に示される疾患に対して治療関連性を有することが明らかになっている 8。特に、L 型カルシウムチャンネル (Cav 1.2) 阻害剤は、血管拡張薬や抗不整脈薬として広く臨床応用されているが、これらの薬剤は心筋や血管平滑筋に発現する L 型カルシウムチャンネルを阻害することで降圧作用や抗不整脈作用を示す (Figure. 3)。

Table 1. 電位依存性カルシウムチャネルの分類、主要発現部位および治療関連疾患 <sup>8a,14</sup>

電気生理学・薬理学的分類	$\alpha$ 1 subunit	生化学・分子生物学的分類	発現部位	治療関連疾患	
HVA	L 型	$\alpha$ 1S	Cav 1.1	骨格筋	
		$\alpha$ 1C	Cav 1.2	心筋、脳、平滑筋	循環器系疾患
		$\alpha$ 1D	Cav 1.3	脳、膵 $\beta$ 細胞、蝸牛	Parkinson 病、不整脈
		$\alpha$ 1F	Cav 1.4	網膜	
	P/Q 型	$\alpha$ 1A	Cav 2.1	脳	てんかん、片頭痛
	N 型	$\alpha$ 1B	Cav 2.2	脳	疼痛
	R 型	$\alpha$ 1E	Cav 2.3	脳	糖尿病
LVA	T 型	$\alpha$ 1G	Cav 3.1	脳、心筋、骨格筋	不整脈、てんかん、高血圧、睡眠障害
		$\alpha$ 1H	Cav 3.2	心筋、脳、腎、肝	疼痛、てんかん
		$\alpha$ 1I	Cav 3.3	脳	睡眠障害、てんかん

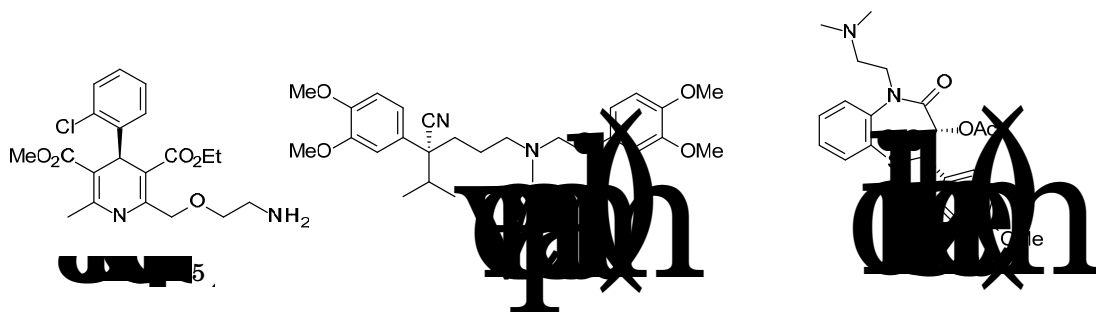


Figure 3. 代表的な L 型カルシウムチャネル阻害薬

中枢神経系においては、神経シナプス前終末に P/Q 型、N 型、R 型チャネルが存在し、神経伝達物質放出に参与している。特に N 型カルシウムチャネルは知覚神経の細胞体の集まりである後根神経節（DRG）細胞やそのシナプス投射先である脊髄後角に多く発現している。痛覚伝達系において侵害受容器で感受された末梢からの侵害刺激は、電気信

号に変換され DRG に存在する細胞体を経由して脊髄後角に収束する。脊髄後角に伝達された情報は、グルタミン酸、サブスタンス P、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) などの痛覚伝達に関連する神経伝達物質を介したシナプス間のシグナル伝達によって二次知覚神経を経由して上位中枢へと伝達されるが、脊髄後角に発現する N 型カルシウムチャンネルはこの神経伝達物質の放出制御に主要な役割を果たすことで痛覚伝達に関与する<sup>9</sup>。

既に N 型カルシウムチャンネルの主要サブユニットである  $\alpha 1$  サブユニットの遺伝子を欠損させた KO マウスの報告が、複数のグループからなされている<sup>10</sup>。KO マウスの解析によれば、 $\alpha 1$  欠損マウスは正常に生育し見かけ上の異常は認められないものの、疼痛感受性についての変化が認められた。すなわち、KO マウスへホルマリン投与を行うと、ホルマリン投与により惹起される 2 相性の疼痛行動（第 I 相及び第 II 相）のうち第 II 相とよばれるホルマリン投与後 10 分から生じるとされる行動の前半部分である第 IIa 相が有意に抑制されていた (Figure. 4)。

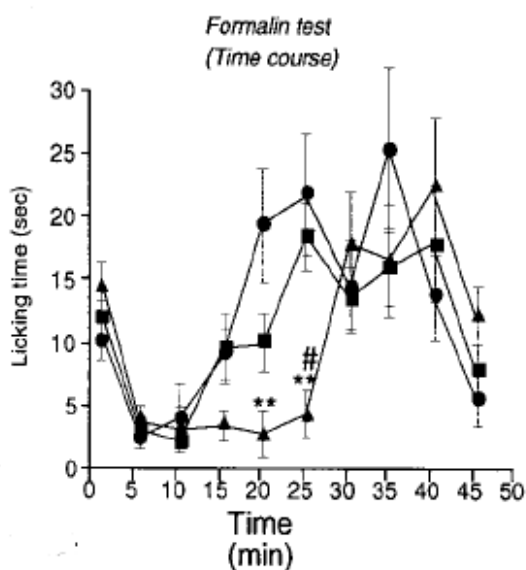


Figure 4. マウスホルマリン試験における侵害性化学刺激に対する痛覚反応<sup>10a</sup>

The licking and/or biting time is plotted against the time after formalin injection. Circles, wild type; squares, heterozygote; triangles, homozygous mutant. Response in the early half of phase 2 (Phase 2A, 10-27 min after injection) were almost completely suppressed in the homozygous mutant. \*\* represents a significant difference at  $P < 0.01$  between  $+/+$  and  $-/-$ , and # represents a significant difference at  $P < 0.05$  between  $+/-$  and  $-/-$  at each time point.

また、KO マウスに脊髄神経結紮処置を施して作成した代表的な神経障害性疼痛モデルである SNL モデルと野生型より作成した SNL モデルを比較したところ、KO マウスでは機械性アロディニアや熱性痛覚過敏の惹起が野生型に比べ顕著に抑制されていた。

さらに、N 型カルシウムチャンネルと痛覚伝達の関連については、選択的 N 型カルシウムチャンネル阻害剤である ziconotide (8)によっても明確に示されている<sup>11</sup>。ziconotide (8)は、イモガイ *Conus magnus* の貝毒より単離された 25 のアミノ酸から成る合成ポリペプチドであり、2005 年に米国にて、2006 年に欧州にて鎮痛薬として上市されている (Figure.5)。臨床試験において、癌患者および HIV 患者のそれぞれ 53.1%、30.7%に鎮痛効果が確認されている<sup>11</sup>。さらにその鎮痛効果は、動物モデルにおいてもよく再現されており、SNL モデル、CCI モデルといった代表的な神経障害性疼痛モデルをはじめとする各種疼痛関連モデルにおいて効果を示すことが既に報告されている<sup>12</sup>。

しかしながら、ziconotide (8)は、いくつかの致命的な欠点が知られている<sup>11</sup>。まず前述のように 25 のアミノ酸からなるペプチドであるため、経口活性がない。そのため標的組織である脊髄への送達のために髄腔内ポンプを体内に埋め込む必要があるが、60 日おきのポンプの交換には感染性髄膜炎のリスクを伴う。さらに、ziconotide (8)は、吐気、目眩、錯乱、運動失調といった数多くの中枢性の副作用が知られており、副作用の発現リスク低減のために低容量 (1 日 2.4  $\mu\text{g}$ ) から 48 時間以上の間隔をおいて漸増 (最大 1 日 21.6  $\mu\text{g}$ ) するレジメンのみが承認されている。これらの問題のため、その顕著な鎮痛効果にもかかわらず適応は重度慢性疼痛のみに限局されている<sup>11</sup>。言い換えれば、N 型カルシウムチャンネル阻害に基づく鎮痛薬は有効性の観点から非常に魅力的であり、ziconotide (8)の有する課題を解決できれば、非常に有用な新規神経障害性疼痛治療薬となりうることを期待される。

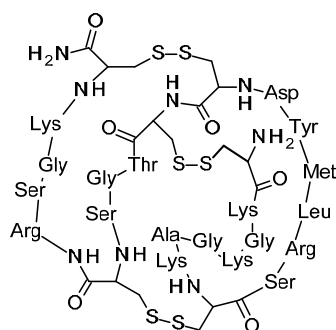
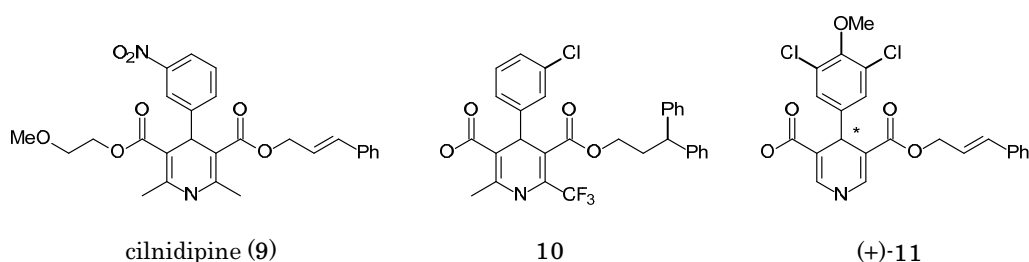


Figure 5. ziconotide (8)の構造

### 第三節 低分子 N 型カルシウムチャネル阻害剤創製の取り組み

前述の ziconotide (8)の課題解決を目指してこれまでに、数多くの低分子 N 型カルシウムチャネル阻害剤の報告がなされているが、ここでは文献として公表されたものについて概説する。尚、今回取り上げた文献を上回る数の特許情報が存在するが、2009 年以前のものについては参考文献 13 の総説を、2009 年以降については参考文献 14 の総説をそれぞれ参考にされたい。

初期の低分子阻害剤創製研究として、L 型、N 型カルシウムチャネル二重阻害剤や非選択的 VDCC 阻害剤から N 型選択的なカルシウムチャネル阻害剤を取得する試みが挙げられる。味の素の研究者らは、高血圧治療薬として臨床応用され、L 型および N 型カルシウムチャネル二重阻害剤として知られるジヒドロピリジン (DHPs) 誘導体 cilnidipine (9)の構造最適化を行っている。主に L 型カルシウムチャネル阻害作用を減弱させることにより、L 型カルシウムチャネル阻害作用に対して 61 倍の選択性を有する N 型選択的なカルシウムチャネル阻害剤(+)-11 の創製に至っている(Table. 2) <sup>15</sup>。

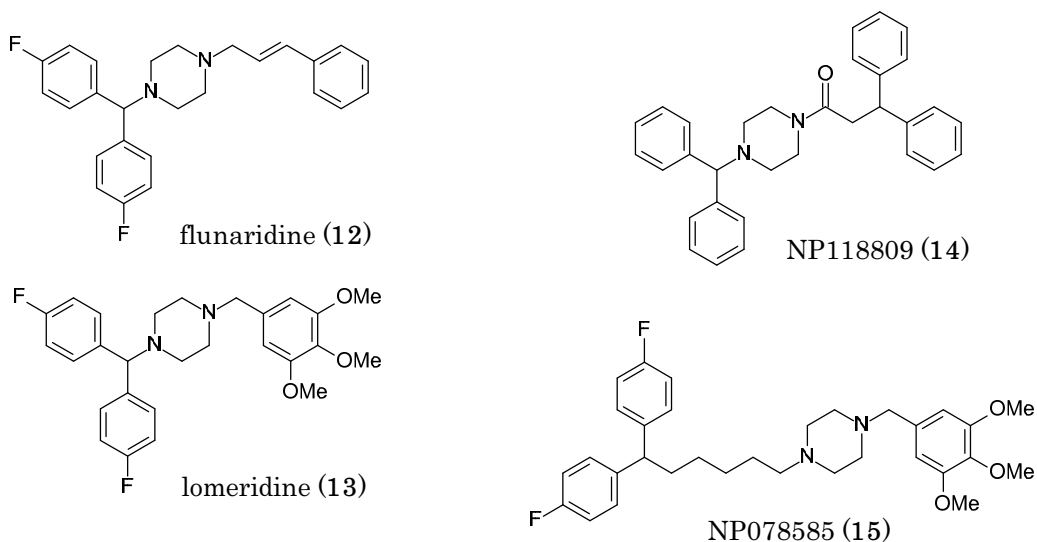


Compound	cilnidipine (9)	10	(+)-11
N-type IC <sub>50</sub> (μM)	1.6	1.7	0.72
L-type IC <sub>50</sub> (μM)	0.0011	1.8	44
ratio (L/N)	0.00068	1.1	61

Table 2. cilnidipine (9)とその誘導体の N 型および L 型カルシウムチャネル阻害作用

Zalicus の研究者は、flunarizine (12), lomerizine (13)といったジフェニルメチルピペリジン骨格を特徴とする非選択的カルシウムチャネル阻害剤をリード化合物とした構造活性相関研究により、L 型カルシウムチャネル阻害作用に対して 100 倍以上の選択性を有する NP118809 (14) を見出している(Table. 3) <sup>16a</sup>。この NP118809 (14)は、既に開発が中止されているが、世界で初めてヒト臨床試験へと進んだ N 型カルシウムチャネル阻害剤である。同様の手法で見出されたのが NP078585 (15)であり、非選択的カルシウム

ムチャンネル阻害作用を有するジフェニルブチルピペリジン誘導体 fluspirilene をリード化合物として構造最適化したものと推察される<sup>14</sup>。これらの報告により N 型選択的なカルシウムチャンネル阻害剤を取得できる可能性が示されたことから、これらの報告が以降の研究に与えた影響は大きい<sup>16</sup>。



Compound	flunaridine (12)	lomeridine (13)	NP118809 (14)	NP078585 (15)
N-type IC <sub>50</sub> (μM)	0.08	0.09	0.11	0.11
L-type IC <sub>50</sub> (μM)	0.31	0.15	12.2	2.8
ratio (L/N)	3.9	1.7	111	12

Table 3. flunarizine (12), lomerizine(13)誘導体の N および L 型カルシウムチャンネル阻害作用

さらに Zalicus の研究者は、NP118809(14)および NP078585(15)を用いてラットホルマリン試験を用いた検討を行っている。前述のようにホルマリンのラットへの投与は二相性の疼痛行動を惹起することが知られているが、第 II 相のとりわけ前半部分である第 IIa 相に対して最も強力な抗侵害受容作用を示した (Figure 6)<sup>16a</sup>。

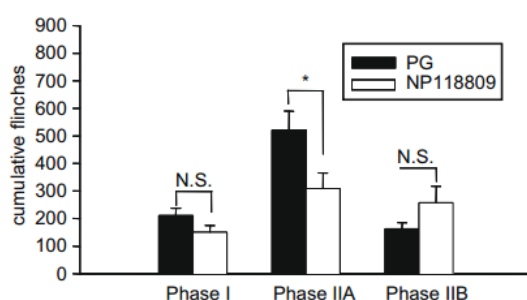


Figure 6. ラットホルマリン試験における NP118809 (14)の有効性 <sup>16a</sup>

NP118809 (14) was administrated at a dose of 25 mg/kg ip n = 24 animals. Statistical significance \* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$

この結果はN型カルシウムチャネルの $\alpha 1B$ サブユニット欠損マウスを用いたホルマリン試験の結果と一致するものであった<sup>10</sup>。 $\alpha 1B$ サブユニット欠損マウスが見かけ上の異常がなく、中枢性副作用を生じないことを合わせて考えると、ziconotide(8)の欠点を克服したN型カルシウムチャネル阻害剤の創製が可能であることを期待させる結果の一つといえるかもしれない。

これらの化合物とは異なり、HTS hit 化合物を由来としたN型カルシウムチャネル阻害剤創製について Merck、AbbVie などの研究者により報告がある。Merck の研究者はインドール誘導体(16)<sup>17a</sup> やアミノピペリジンベンゼンスルホンアミド誘導体(17)<sup>17b</sup> およびその類縁化合物(18)<sup>17c</sup> について報告している(Figure 7)。これらの誘導体を用いた検討によって、N型カルシウムチャネル阻害剤が神経障害性疼痛(SNL)モデルのみならずOA疼痛モデルの一つであるCFAモデルにおいても効果を示すことが示されており、鎮痛薬としての高い有用性を示唆する実験結果であると言える。

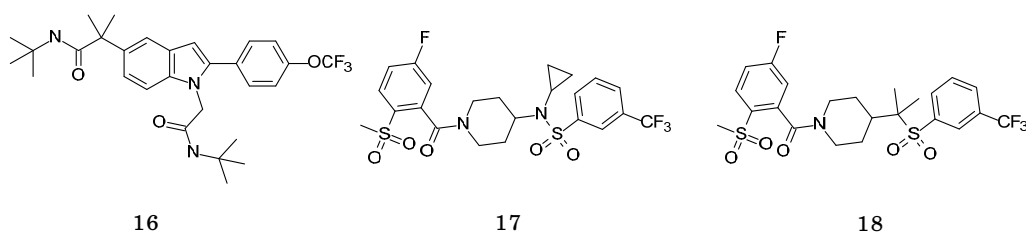
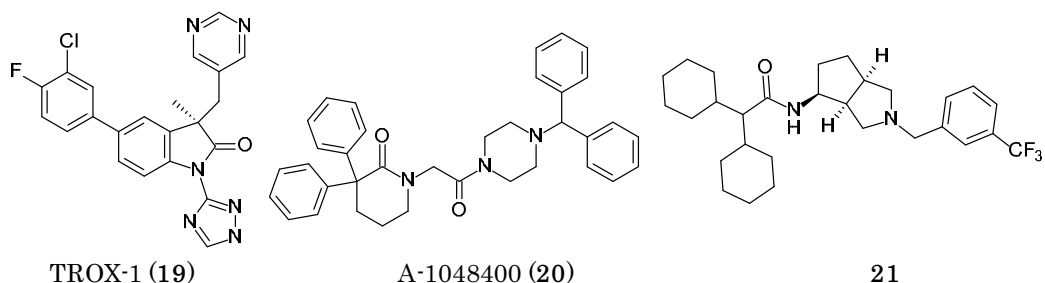


Figure 7. 化合物 16, 17, および 18 の構造

さらに、TROX-1 (19)と名付けられたオキシインドール誘導体は見出された経緯や周辺構造活性相関の情報は報告がないものの、Merck の研究者は膨大な薬理学および毒性学データを報告しており、相当な高質化合物であることを思わせる(Table. 4)<sup>18</sup>。特に(不



活性化) 状態選択性に対する詳細な検討は特筆に値する。電位依存性 N 型カルシウムチャネルは、closed, open, inactivated の少なくとも 3 つの立体構造があり疼痛病態時には脊髄後角において inactivated の存在比が増えるとされている。この inactivated な状態にある N 型カルシウムチャネルを阻害し、過活動状態にある神経のみに選択的に阻害剤が作用することで中枢性副作用を回避できる可能性が以前より提唱されている<sup>19</sup>。この考えは、1,4-ジヒドロピリジンタイプの L 型カルシウムチャネル阻害薬における副作用と状態選択性の関係に関する知見からの援用を背景としているが、実際、重篤な中枢性副作用を生じる ziconotide (8) はほとんど状態選択性なしに N 型カルシウムチャネルを阻害することが知られている<sup>19</sup>。



Compound	TROX-1 (19)	A-1048400 (20)	21
Inactivated IC <sub>50</sub> (μM)	0.11	0.8	0.041
resting IC <sub>50</sub> (μM)	45% at 3 μM	4.1	49% at 0.3 μM
SNL EC <sub>50</sub> (mg/kg po)	8	15	N.T.

Table 4. TROX-1(19), A-1048400(20), 化合物 21 の薬理作用

興味深いことに TROX-1(19)は、電気生理学的検討の結果、不活性化状態選択的な阻害剤 (IC<sub>50</sub> = 0.11 μM vs. 45% at 3 μM) あることが示されている。また in vivo 試験においては、神経障害性疼痛の代表的な動物モデルである SNL モデルにおいて経口投与時 ED<sub>50</sub> = 8 mg/kg の薬効を示す。さらに TROX-1 (19)は、循環器系副作用および協調運動障害といった副作用と薬効との間に、それぞれ血漿中濃度比較で 38 倍および 20 倍のマージンが存在する。中枢性副作用の指標である協調運動障害と不活性化状態選択的 N 型カルシウムチャネル阻害との関係は必ずしも明確なものではないが、不活性化状態選択

的な TROX-1 (19)が、中枢性副作用との間に 20 倍のマージンを有しているという結果は、この仮説を支持するものかもしれない。

AbbVie の研究者は、NP118809(14)と類似の HTS hit 化合物を最適化することにより A-1048400 (20)を見出し、Merck の報告と類似した検討結果を報告している(Table. 4)<sup>20</sup>。A-1048400 (20)は中程度ながら不活性化状態に選択的な化合物であり( $IC_{50} = 0.8 \mu M$  vs.  $4.1 \mu M$ )、神経障害性疼痛モデルである SNL モデルにおける経口投与時の  $ED_{50}$  値は、15 mg/kg である。化合物 20 は 300 mg/kg 経口投与時まで協調運動障害作用は示さない。さらに AbbVie の研究者は、構造の異なる誘導体として 4-アミノシクロペンタピロリジンを中心骨格とし左右に疎水性部分が連結した化合物についても報告している<sup>21</sup>。化合物 21 は、*in vitro* 活性だけでなく、L 型カルシウムチャネル阻害に対する選択性( $IC_{50} = 46 \mu M$ )も良好で、電気生理学的検討の結果、不活性化状態選択的な阻害剤( $IC_{50} = 0.041 \mu M$  vs. 49% at  $3 \mu M$ )であることが示されている(Table. 4)。また、21 はカラゲニン誘発炎症性疼痛モデル、モノヨード酢酸を用いた OA モデルである MIA モデル、ホルマリン試験と様々な疼痛動物モデルにおいて鎮痛効果を示すことが報告されている。さらに、21 はラットを用いた循環器系副作用の検討において、薬効と血中濃度比較で 15 倍のマージンがあり、30 mg/kg 経口投与時に TROX-1 (19)と同様に協調運動障害は確認されていない。

高血圧や狭心症の治療薬として用いられる L 型カルシウムチャネル阻害剤のように、これまでもイオンチャネルを標的とした薬剤は優れた薬効を示し有用なものが多い。しかしこれらの薬剤のほとんどは薬剤創出時、作用点が未解明で、のちにイオンチャネルが標的であることが明らかにされたものである。イオンチャネル創薬は一般に難易度が高いとされるが、なかでも電位依存性イオンチャネル分子を標的とする創薬は、①受容体や酵素を標的とする創薬と異なり内在性の生体分子が存在しないため、薬物はアロステリック部位に偶然作用することで薬効発現すること(リガンド設計が困難)、② $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ の4つに大別されるイオンチャネルには、各チャネル間でさらに多数のサブタイプが存在しそれぞれが生命活動に重要な機能をなしていること(すなわち、薬剤として応用するには副作用懸念回避のためイオンチャネル間、サブタイプ間の選択性が必要である)および③ほとんどの電位依存性イオンチャネルの立体構造は未解明のままであること、などが原因で受容体や酵素を標的とする創薬に比べて立ち遅れていた<sup>22</sup>。

しかしながら、近年、HTS 技術の高速・高質化が実現し、さらに薬理評価系技術や分子生物学が飛躍的に進歩したことに伴って、サブタイプ選択性の高いリガンドの取得の可能性が高まり、創薬機会がうかがえる状態になりつつある。低分子 N 型カルシウムチャンネル阻害剤の創製研究も正にこうした潮流を背景として各社が盛んに研究を行う状況であり興味深い阻害剤や評価技術が多数報告されている<sup>9b, 23</sup>。また近年、X 線結晶構造解析技術やクライオ電子顕微鏡法、高分解能 NMR 等を利用した構造化学の進展で、これまで困難とされていたイオンチャンネルの立体構造も少しずつ明らかにされつつある<sup>8b,c</sup>。電位依存性カルシウムチャンネルの結晶構造解析は、論文報告が存在する電位依存性カリウムチャンネルや電位依存性ナトリウムチャンネルに比べさらに難易度が高いとされ、創薬に有用な重要な示唆を与える情報は未だ存在しないのが現状であるが、2015 年には中程度の解像度 (4.2 Å) ながらクライオ電子顕微鏡法によってウサギ Cav 1.1 の構造が報告されるなど今後のさらなる研究の進展が大いに期待される状況となっている<sup>24</sup>。

#### 第四節 本研究の概要

第二章から第四章までの本論文の内容について記載した。以下にその概要を記す。

##### 第二章 hERG 阻害を回避したリード化合物(1*S*)-(1-シクロヘキシル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル)-2-{{(1-ヒドロキシシクロヘキシル)メチル}アミノ}エタノンの創製

アステラス製薬社内化合物群より見出されたテトラヒドロイソキノリン骨格を有する新規低分子 N 型カルシウムチャンネル阻害剤 22a は強力な阻害作用を有すると同時に強力な hERG 阻害作用も有していた。筆者らは、22a の構造変換を行い、hERG 阻害作用に対して約 100 倍の選択性を有する高質なりード化合物(*S*)-22c を得ることに成功した。化合物(*S*)-22c は、強力な N 型カルシウムチャンネル阻害剤であり、代表的な神経障害性疼痛モデルであるラット SNL モデルにおいて経口投与 3 mg/kg より効果を示す高質なりード化合物であった。

##### 第三章 2-{{(1-ヒドロキシシクロヘキシル)メチル}アミノ}-(1*R*)-(1-イソプロピル-6-メトキシ-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル)エタノンの創製

リード化合物 22c が、良好な主薬効を有する一方で、CYP2D6 および 3A4 の阻害作用を有していたため、両 CYP 阻害作用回避のため検討を行った。テトラヒドロイソキノリン C1 位の 1-シクロヘキシル基を疎水性の低減した 1-イソプロピル基へと変換した結果、

CYP3A4 阻害作用を回避することができた。得られた 32f の CYP2D6 阻害作用の軽減を目指してテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入を検討し、リード化合物 22c に対して 5 倍以上 CYP2D6 阻害作用が減弱した (*R*)-32r を得ることに成功した。化合物(*R*)-32r は、神経障害性疼痛モデル、ラット SNL モデルにおいて効果を示し経口投与時の ED<sub>50</sub> は、2.5 mg/kg であった。

#### 第四章 2-[[*(2R)*-2-ヒドロキシプロピル]アミノ]-1-[[*(1S)*-8-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(*1H*)-イル] ]エタノンの発見

CYP2D6 の更なる減弱を目的として、リード化合物 22c の変換を再検討した。第三章における検討の結果、テトラヒドロイソキノリンの C1 位はイソプロピル基のような比較的小さな置換基では、CYP2D6 回避には適さない可能性が示唆されていた。その一方で、これまでの検討から CYP3A4 阻害作用を回避するため、分子全体の疎水性低減が必要であった。そこで、22c の右末 1-(アミノメチル)ヒドロキシシクロヘキシル基をアミノ(*2R*)-2-ヒドロキシプロピル基へと変換することで疎水性の低減を図り、N 型カルシウムチャネル阻害を保持しつつ、CYP3A4 阻害作用を回避させた 40a を得た。化合物 40a の CYP2D6 阻害作用の軽減を目指し、テトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入を検討した結果、テトラヒドロイソキノリン C8 位へメトキシ基を導入した 40p が本研究における検討で初めて CYP2D6 阻害活性の顕著な減弱を示した。しかしながら 40p は、置換基導入により疎水性が増大したことで CYP3A4 阻害作用を呈した。そこで、疎水性の低減を図るため、テトラヒドロイソキノリン C1 位のシクロヘキシル基をフェニル基に変換したところ、CYP2D6 および CYP3A4 阻害作用がなく N 型カルシウムチャネル阻害作用を有する(*1S*)-45d を得ることに成功した。化合物(*1S*)-45d は、代表的な神経障害性疼痛モデルであるラット SNL モデルにおいて効果を示し経口投与時の ED<sub>50</sub> は、2.8 mg/kg であった。

## 第二章 hERG 阻害を回避したリード化合物(1*S*)-(1-シクロヘキシル-3, 4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル)-2-[[1-(1-ヒドロキシシクロヘキシル)メチル]アミノ}エタノンの創製

### 第一節 はじめに

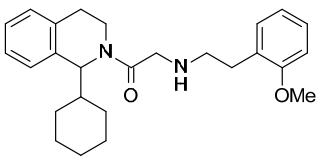
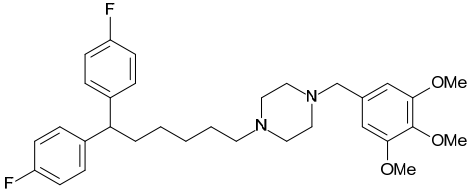
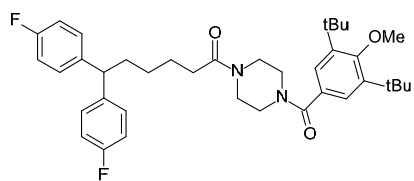
化合物 22a は、アステラス社内化合物より見出された新規低分子 N 型カルシウムチャネル阻害剤であり、塩基性部分を中央に持ちその両端を疎水性部分が占めること、および一方の疎水性部分にテトラヒドロイソキノリン骨格を有することを構造特徴としている。化合物 22a は Zalicus より報告された低分子 N 型カルシウムチャネル阻害剤 NP078585(15)と同等の強力な N 型カルシウムチャネル阻害作用を有するだけでなく、良好な水溶解性を示し、さらに変換の余地を残した druglike な分子量 (MW <500) であるためこの 2 点で NP078585 (15)よりも優れた化合物であると考えられた(Table. 5)。しかしながら、化合物 22a および NP078585 (15)は強力な hERG 阻害作用を併せ持っていた(Table. 5)。

hERG は心筋細胞に発現する遅延活性型の電位依存性カリウムチャネルチャンネルの一つである IKr チャンネルの $\alpha$ サブユニット分子である。基本的な構造は電位依存性カルシウムチャネルと同様であり、6 か所の膜貫通部位 (S1-S6 ドメイン) を持ち、このうち S1-S4 ドメインが膜センサーとして機能する。また、ポアドメインと呼ばれる S5 および S6 ドメインは、この $\alpha$ サブユニットが 4 量体構造を形成することで、カリウムイオンのチャネルポアとして機能する。hERG 阻害作用を有する薬剤は、心電図における QT 間隔の延長を引き起こすことが臨床上の知見として広く知られている。この QT 間隔延長作用は、心室頻拍や突然死のリスクファクターであり、過去には安全性の観点から市場撤退を余儀なくされた薬剤も存在し、現行の創薬研究において hERG 阻害回避は必須となっている<sup>25</sup>。

筆者らは化合物 22a および NP078585(15)が強力な hERG 阻害作用を示した理由を典型的な hERG 阻害剤として知られているクラス III 抗不整脈薬と構造的特徴が類似しているためであると考えた<sup>26</sup>。すなわち、これらの化合物はベンゼン環が 1 から 4 原子長程度のリンカーを介して塩基性アミノ基と結合するという共通した化学構造を有している。ところで、Zalicus の研究者は、NP078585 (15)の hERG 阻害回避を目的とした検討について既に報告している<sup>16c</sup>。彼らは、NP078585 (15)のアミン部分をアミドに変換することで塩基性を消失させ化合物右末のベンゼン環上の置換基を変換することで良好

な N 型カルシウムチャネル阻害作用を維持しながら hERG 阻害を回避した 23 を得ることに成功している。しかしながら、この変換により分子量はさらに増大して 600 を超えており、筆者らが評価したところ水溶解性も大きく損なわれていることがわかった (Table. 5)。

Table 5. 化合物22a, NP078585 (15)および化合物23のプロファイル

Compound	Molecular weight	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	hERG IC <sub>50</sub> (μM)	Aqueous solubility JP1/JP2 (μM)
 <p>22a</p>	406	0.60	8.3	>100/>100
 <p>NP078585 (15)</p>	539	1.1	3.4	>100/<1
 <p>23</p>	619	0.43	>100	<1/<1

## 第二節 hERG 阻害回避の合成方針

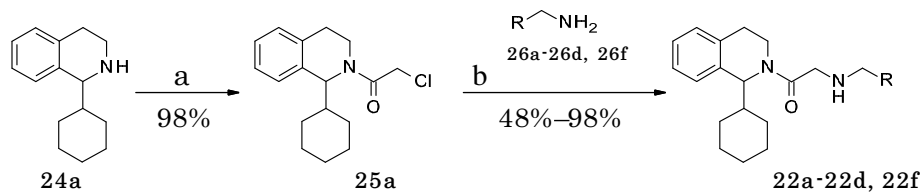
筆者らは、良好な水溶解性や druglike な分子量 (MW <500) といった化合物 22a の利点を損なうことなく、hERG 阻害作用に対して選択性を有するリード化合物の創製を目指した変換を計画した。その際に、筆者らは Mitcheson らによる hERG の阻害の構造基礎研究の成果を参照した<sup>27</sup>。Mitcheson らによれば、hERG 阻害作用を示すカルシウム

ムチャンネル阻害剤およびナトリウムチャンネル阻害剤の多くが、hERG の S6 ドメインで相互作用することで阻害作用を示す。とりわけ強い阻害作用を示すためには、S6 ドメインの Phe<sup>656</sup> および Tyr<sup>652</sup> との相互作用が重要であることが明らかにされている。

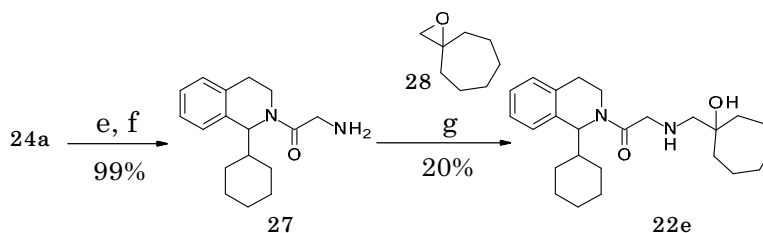
そこで筆者らは、化合物 22a が hERG 阻害作用を示す他のカルシウムチャンネル阻害剤同様に S6 ドメインに結合することで hERG 阻害作用を生じているのではないかと仮定した。この仮定に従い、前述の Zalicus 社の変換手法同様に塩基性窒素原子を変換することで、S6 ドメインに存在する芳香族性残基とのカチオン- $\pi$ 相互作用や疎水性残基との静電相互作用を消失させることにより hERG 阻害作用を減弱させることが考えられた<sup>25c, 28</sup>。しかしながら、このアプローチは化合物 23 のように水溶解性が大きく損なわれる可能性が高い(Table. 5)。そこで筆者らは、塩基性窒素原子を残しながら阻害作用を減弱させるための方針として $\pi$ - $\pi$ 相互作用や静電相互作用を減弱させるため 22a のフェニルアミノ基部分の変換を計画した<sup>29</sup>。具体的には、芳香族性残基との $\pi$ - $\pi$ 相互作用を消失させるためにフェニル基を飽和脂肪環へと変換し、さらに疎水性残基との静電相互作用を減弱させる目的で、導入した脂肪環へ水酸基導入を検討することとした。

### 第三節 1-シクロヘキシル-3,4-テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成

1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリン誘導体は Scheme 1 に示すように合成した。既知の 1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリン 24a に対してクロロアセチルクロリドを Schotten-Baumann 反応条件下縮合した後、得られたアセトアミド 25a に対してアルキル化によりアミン 26a-26d, 26f を作用させることで 22a-22d, 22f を得た。キラルな (*S*)-22c および (*R*)-22c については、それぞれ既知の (*S*)-および (*R*)-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリンより誘導した<sup>30</sup>。化合物 22e については、1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリンを Boc 基で保護したグリシンにてアシル化し Boc 基を脱保護後、生成したアミン 27 とオキシラン 28<sup>31</sup> を反応させることで合成した。



a R = 2-methoxyphenylmethyl  
 b R = cyclohexyl  
 c R = 1-hydroxycyclohexyl  
 d R = 1-hydroxycyclopentyl  
 f R = 1-hydroxycyclohexylmethyl



Scheme 1. 化合物 22a–22f の合成

Reagents and conditions: (a) chloroacetyl chloride, AcOEt, sat. NaHCO<sub>3</sub>, rt, 1 h; (b) *i*Pr<sub>2</sub>NEt, CHCl<sub>3</sub>, 60 °C, 2 d; (c) [(*tert*-butoxycarbonyl)amino]acetic acid, pivaloyl chloride, 4-methylmorpholine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 14 h; (d) 4 M HCl/AcOEt, AcOEt, 50 °C, 5 h; (g) 2-propanol, reflux, 15 h.

#### 第四節 薬理評価と考察

##### a) 薬理評価方法

N型カルシウムチャネル阻害作用は、IMR-32 ヒト神経芽細胞腫細胞を用い FLIPR アッセイにより評価した。その際、nitrendipine を用いて L型カルシウムチャネルを阻害した。hERG 阻害作用は CHO 細胞を用いた Rb efflux アッセイにて評価した (Table. 6)。

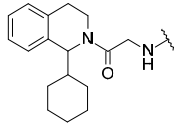
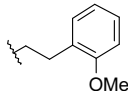
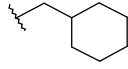
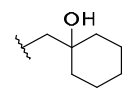
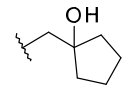
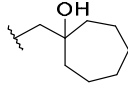
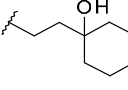
##### b) 構造活性相関

シクロヘキシルメチル基を導入した 22b は、22a に比べ約 2 倍 N 型カルシウムチャネル阻害活性が減弱したものの、約 3 倍 hERG 阻害活性が減弱した。そのため hERG 阻害作用と N 型カルシウムチャネル阻害作用の選択性は 20 倍に改善した。続いてシクロヘキシルメチル基へ水酸基を導入し 22c を合成したところ、疎水性が低減したため hERG 阻害活性は 22a に比べ約 2 倍減弱した。化合物 22c の N 型カルシウムチャネル阻害作用は 22a と同等であり、選択性は 60 倍に達した。



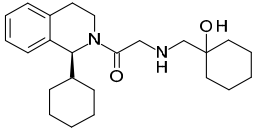
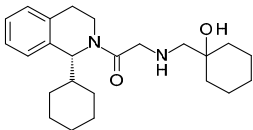
続いて、飽和環のサイズを検討した。シクロペンチル体22dおよびシクロヘプチル体22eのhERG阻害活性はともに、シクロヘキシル体22cよりも弱かった。本検討では22dが最も弱いhERG阻害作用を示した。しかしながら、22dおよび22eともにN型カルシウムチャンネル阻害作用もシクロヘキシル体22cに比べ3倍以上弱くなった。さらに、リンカー長について検討したところ、エチルリンカー体22fよりもメチルリンカー体22cの方が強いN型カルシウムチャンネル阻害作用を示した。化合物とhERGの $\pi$ - $\pi$ 相互作用を消失させるため、飽和脂肪環へと変換し、さらに静電相互作用を減弱させるため環上への水酸基を導入することで期待通りhERG阻害作用を減弱させることができた。N型カルシウムチャンネル阻害作用は、水酸基導入により向上し、飽和環はシクロヘキシル基が最も高活性で、リンカーはメチルリンカーが好ましいことが分かった。その結果、今回検討した化合物では、22cが最も有望なプロファイルを有していることが分かった。

Table 6. 飽和脂肪環および水酸基導入によるN型カルシウムチャネル阻害作用、hERG阻害作用および選択性への影響

Compound	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	hERG IC <sub>50</sub> (μM)	hERG/N-type selectivity ratio	
				
22a		0.60	8.3	13.8
22b		1.3	26.0	20.0
22c		0.77	46.1	59.9
22d		2.8	78.6	28.1
22e		2.6	50.1	19.6
22f		1.7	N.T.	N.T.

強いN型カルシウムチャネル阻害作用を示しhERG阻害作用に対して最も良好な選択性を示した22cにつき光学活性体を合成し評価した(Table. 7)。その結果、(S)体の方が(R)体よりもN型カルシウムチャネル阻害作用が強くhERG阻害作用との選択性も高いことが分かった。

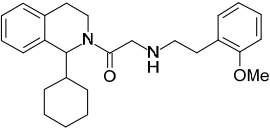
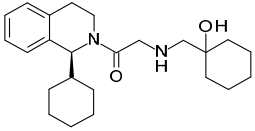
Table 7. 化合物(*S*)-22cおよび(*R*)-22cのN型カルシウムチャンネル阻害作用、hERG阻害作用および選択性

Compound	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	hERG IC <sub>50</sub> (μM)	hERG/N-type selectivity ratio
<p>(<i>S</i>)-22c</p> 	1.0	98	98.0
<p>(<i>R</i>)-22c</p> 	1.5	76	50.7

c) リード化合物(*S*)-22cのプロファイリング

化合物(*S*)-22cに対してさらなる評価を行った(Table. 8)。主要な5つのCYPアイソフォームに対して22aより良好なプロファイルを示した。とりわけCYP1A2, CYP2C9, CYP2C19への阻害作用は大きく改善した。神経障害性疼痛の動物モデルとして広く知られるSNLモデルにて(*S*)-22cを評価したところ、(*S*)-22cは3 mg/kg経口投与時より鎮痛効果を示した(Figure. 8A)。その効果は30 mg/kg経口投与時まで用量依存的であった。またrotarod試験により(*S*)-22cの協調運動への影響を評価したところ、30 mg/kgおよび100 mg/kg経口投与時においても(*S*)-22cによる落下時間の減少は確認されなかった(Figure. 8B)。このことより(*S*)-22cは、3 mg/kgから30 mg/kg経口投与時に協調運動への影響受けずに鎮痛効果を示しているものと考えられた。

Table 8. 化合物22aおよび(S)-22cの主要CYP5分子種に対する阻害作用

Compound	CYP1A2 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2C9 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2C19 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>	
					Preincubation	
					time	
					0 min	30 min
 22a	26	4.8	3.0	0.37	65%	53%
 (S)-22c	>50	>50	>50	0.60	87%	67%

<sup>a</sup>Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate.

最後に、whole-cellパッチクランプ法を用いて(S)-22cの活性化状態および不活性化状態時のN型カルシウムチャネルに対する作用を評価した。(S)-22cは、不活性化状態(-70 mV)時のN型カルシウムチャネルに対してIC<sub>50</sub> = 1.7 μMの阻害活性を示したのに対し、活性化状態(-90 mV)時のN型カルシウムチャネルに対してはIC<sub>50</sub> = 12.7 μMの弱い阻害活性しか示さなかった。すなわち、(S)-22cは不活性化状態選択的なN型カルシウムチャネル阻害剤であることがわかった。MerckやAbbVieのN型カルシウムチャネル阻害剤における検討同様、(S)-22cが不活性化状態選択的な性質を有しているため、協調運動への悪影響を与えることなく、鎮痛効果を示したと考えられる。

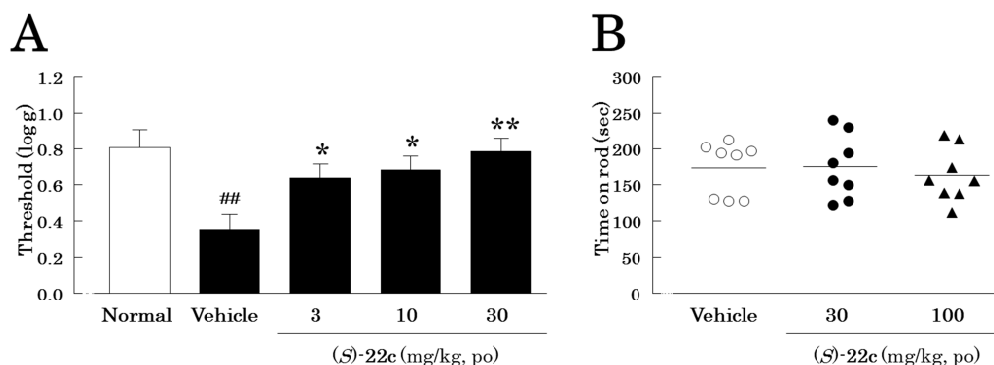


Figure 8. (A) ラット SNL モデルを用いた(S)-22c の機械性アロディニアへの効果

Each bar represents the mean  $\pm$  SEM withdrawal threshold of the hindpaw (n=8). ##P <0.005, statistically significant compared with normal group (Student's t-test). \*P <0.05 and \*\*P <0.005, statistically significant compared with vehicle-treated group (Dunnett's test). Closed columns, operated side paw in drug- and vehicle-treated group. Open column, non-operated side paw in vehicle-treated group.

(B) rotarod 試験における(S)-22c の協調運動に対する影響

Each symbol represents individual data. Dunnett's test was used to test for statistical significance of differences between drug- and vehicle-treated groups. No significant differences between these groups were noted.

## 第五節 第二章まとめ<sup>32</sup>

アステラス製薬社内化合物群より見出されたテトラヒドロイソキノリン骨格を有する新規低分子N型カルシウムチャネル阻害剤22aは強力な阻害作用を有すると同時に強力なhERG阻害作用も有していた。筆者らは、化合物22a右末の2-メトキシフェニルエチル基を1-(アミノメチル)ヒドロキシシクロヘキシル基へと変換することで良好な水溶性を維持しながらhERG阻害回避することに成功した。新たに見出されたテトラヒドロイソキノリン骨格を有する(S)-22cは、hERG阻害作用に対して約100倍の選択性を有するだけでなく、強力なN型カルシウムチャネル阻害剤であり、神経障害性疼痛モデルにおいて経口投与にて3 mg/kgより効果を示す高質なリード化合物であった。また、whole-cellパッチクランプ法を用いて(S)-22cの活性化状態および不活性化状態時のN型カルシウムチャネルに対する作用を評価したところ、(S)-22cは、不活性化状態選択的なN型カルシウムチャネル阻害剤であることがわかった。

### 第三章 2-[[ (1-ヒドロキシシクロヘキシル) メチル] アミノ]-(1*R*)-(1-イソプロピル-6-メトキシ-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル) エタノンの創製

#### 第一節 はじめに

第二章において筆者らは、hERG阻害作用に対して約100倍の選択性を有し、神経障害性疼痛モデルにおいて経口投与にて3 mg/kgより効果を示す高質なリード化合物(*S*)-22cを見出すことに成功した。しかしながら、(*S*)-22cはCYP2D6および3A4阻害活性を有していることが明らかとなった。

CYP酵素は、膜結合性蛋白の一つで、補因子としてヘムを有する酸化酵素であり、ほとんどすべての生物に存在している。CYP酵素の一種である CYP2D6と3A4は、薬物代謝の主要な酵素であり、臨床で利用される薬剤のおおよそ25%がCYP2D6により代謝され、50%以上の薬剤がCYP3A4により代謝されるとされている<sup>33</sup>。CYP阻害作用を有する薬剤は併用する薬剤との薬物間相互作用によって副作用を引き起こしたり、薬効に悪影響を与えたりする可能性がある。とりわけ時間依存的なCYP阻害作用は、休薬後もその影響が持続し管理することが難しいため、重大な副作用を引き起こすことが少なくない。実際、神経障害性疼痛治療にも使用されるamitriptylineやimipramineといった三環性抗うつ薬 (TCAs) は、抗うつ薬として汎用されるfluoxetineやparoxetineといった選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) との薬物間相互作用が知られており服薬には注意を要する<sup>34</sup>。一方で、pregabalinやgabapentinといった薬物間相互作用の懸念が少ない神経障害性疼痛治療薬も存在し、この点で三環性抗うつ薬 (TCAs) やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) といった他の疼痛治療薬よりも臨床上の利便性が高いとされる。こうした疼痛治療の臨床状況および神経障害性疼痛患者が様々な疾患を背景とすること、つまり、様々な薬剤を服用する潜在的な可能性を有していること、を鑑みて、筆者らは、新規神経障害性疼痛治療薬は薬物間相互作用の懸念がないことが望ましいであろうと考えた。そのためCYP2D6および3A4阻害活性の回避を目指して22cをリード化合物とした最適化研究に着手した。

#### 第二節 CYP2D6 および 3A4 阻害回避の合成方針

既に構造基盤研究による知見より CYP2D6 および 3A4 の基質ポケットは大きくまた可動性が高いことが知られている。さらに既知の基質との複合体 X 線結晶構造解析の報告についても、報告そのものが限られているだけでなく、薬剤がポケットの様々なサイ

トに結合することが報告されている (Figure. 9)。そのため構造情報に基づいてドッキングスタディなどを活用するといった、合理的ドラッグデザインにより CYP 阻害作用を低減させることは一般に困難であるとされている<sup>35</sup>。そこで筆者らは経験的知見を援用して CYP2D6 および 3A4 阻害活性回避の合成方針を立案することとした。

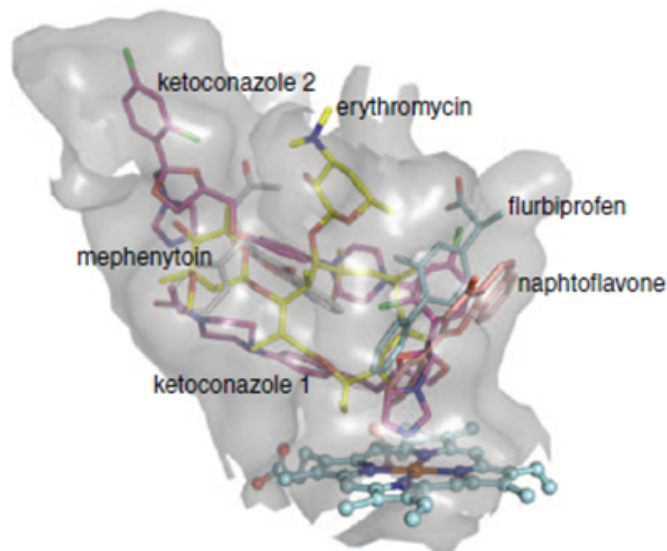


Figure 9. CYP3A4 と阻害剤 5 化合物の X 線結晶の重ね合わせ<sup>35b</sup>

まず筆者らは、疎水性の高い化合物が CYP の基質になりやすいというよく知られた知見に注目した<sup>36</sup>。脂溶性の指標として、比較的簡便に算出できる  $c\text{LogD}_{7.4}$  を用いることとし、N 型カルシウムチャネル阻害作用を維持しながら、疎水性すなわち  $c\text{LogD}_{7.4}$  を低減させることで CYP 阻害を回避することとした。リード化合物 22c には疎水性の高い二つのシクロヘキシル基が分子中に存在するが、本分子中、部分構造として最も疎水性の高い 1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリン構造の脂溶性低減について検討するためテトラヒドロイソキノリン C1 位の置換基変換を計画した。

さらに、CYP2D6 阻害剤に共通する構造的特徴として塩基性窒素原子と平面的な芳香環の存在が QSAR 解析等で報告されている<sup>36</sup>。Pfizer の研究者らは、この構造的特徴を有するモノアミン再取り込み阻害剤の研究において平面的な芳香環部への置換基導入が CYP2D6 阻害活性に大きな影響を与えることを報告している (Table 9)<sup>36c, 37</sup>。そこで、この特徴を有する (*S*)-22c の CYP2D6 阻害減弱を目的として筆者らはテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環への置換基導入について検討を行った。

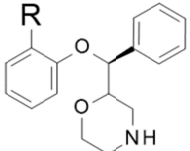
	R	F	Cl	OCF <sub>3</sub>	OMe
	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	>29	0.795	0.125	>29

Table 9. 置換基導入が CYP2D6 阻害作用に与える影響

### 第三節 1-置換テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成

1-置換テトラヒドロイソキノリン誘導体は Scheme 2 に示すように合成した。出発原料のフェネチルアミン(29b, 29k–29n, 29p, および 29q)をアシル化して得られるアミド(30b, 30g, 30h, 30k–30n, 30p, および 30q)を Bischler-Napieralski 反応条件あるいは改良型<sup>38</sup>条件を用いて環化後、水素化ホウ素ナトリウムにより還元を行ってテトラヒドロイソキノリン(31b, 31g, 31h, 31k–31n, 31p, および 31q)を得た。尚、テトラヒドロイソキノリン(31e, 31f, 31i, 31o, および 31r–31t)については既知の方法に従って合成した<sup>39, 40</sup>。また 31a および(*S*)-31j は市販品を入手した。テトラヒドロイソキノリン(31a, 31b, 31e–31m, 31o, 31p, および 31r–31t)をクロロアセチルクロリドにてアシル化後 1-(アミノメチル)シクロヘキサノールと反応させることでテトラヒドロイソキノリン誘導体(32a, 32b, 32e–32m, 32o, 32p, および 32r–32t)を得た。光学活性な(*R*)-32r は、(*S*)-マンデル酸を用いたジアステレオマー塩法により得られるテトラヒドロイソキノリン(*R*)-32r から同様の方法にて合成した。また(*S*)-32r は(*S*)-31r より誘導した。(*R*)-31r の絶対立体化学は単結晶 X 線構造解析より決定した。

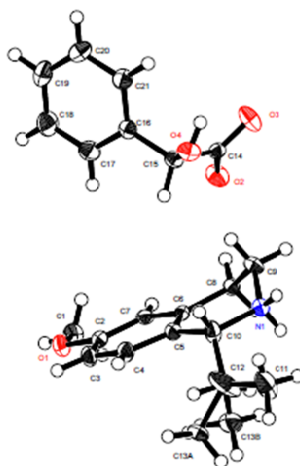
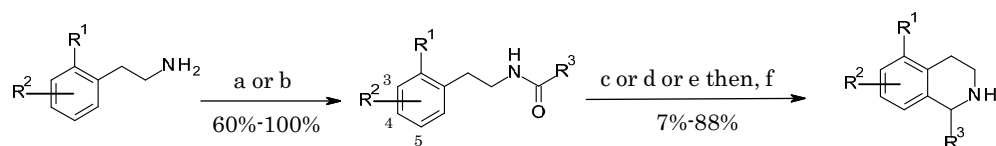


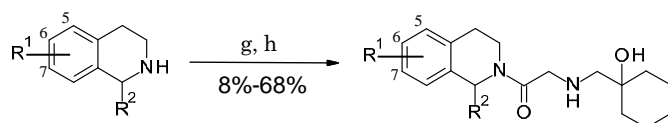
Figure 10. (*R*)-31r の X 線結晶構造



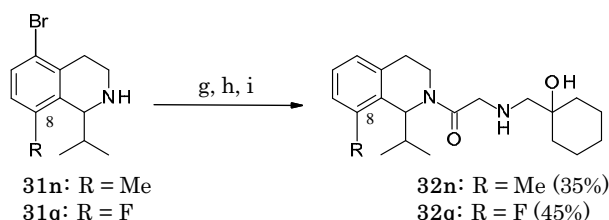
1-イソプロピル-8-置換テトラヒドロイソキノリン(32n および 32q) は Scheme 2 に示すように合成した。その際、8-置換テトラヒドロイソキノリンを選択的に合成するため、2-ブロモフェネチルアミン(29n および 29q)を原料として用いた<sup>40</sup>。2-ブロモフェネチルアミン(29n および 29q)は、3工程にて1-イソプロピル-5-ブロモ-8-置換テトラヒドロイソキノリン(31n および 31q)へと誘導した。1-イソプロピル-5-ブロモ-8-置換テトラヒドロイソキノリン(31n および 31q) をクロロアセチルクロリドにてアシル化後、ブロモ基を還元的に除去して1-イソプロピル-8-置換テトラヒドロイソキノリン(32n および 32q)を得た。



29b: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H  
 (for 30b, 30g, 30h) 30b: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = 4-tetrahydropyranyl 31b: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = 4-tetrahydropyranyl  
 30g: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = *tert*-butyl 31g: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = *tert*-butyl  
 29k: R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = H 30h: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = 1-ethylpropyl 31h: R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = 1-ethylpropyl  
 29l: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 3-Me 30k: R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = isopropyl 31k: R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = isopropyl  
 29m: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-Me 30l: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 3-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl 31l: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 6-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl  
 29n: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 5-Me 30m: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl 31m: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 7-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl  
 29p: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-F 30n: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 5-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl 31n: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 8-Me, R<sup>3</sup> = isopropyl  
 29q: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 5-F 30p: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-F, R<sup>3</sup> = isopropyl 31p: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 7-F, R<sup>3</sup> = isopropyl  
 30q: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 5-F, R<sup>3</sup> = isopropyl 31q: R<sup>1</sup> = Br, R<sup>2</sup> = 8-F, R<sup>3</sup> = isopropyl



31a: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H 32a: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H  
 31b: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-tetrahydropyranyl 32b: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 4-tetrahydropyranyl  
 31e: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = methyl 32e: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = methyl  
 31f: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = isopropyl 32f: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31g: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = *tert*-butyl 32g: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = *tert*-butyl  
 31h: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 1-ethylpropyl 32h: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = 1-ethylpropyl  
 31i: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = cyclopentyl 32i: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = cyclopentyl  
 (S)-31j: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = *S*-phenyl (S)-32j: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = *S*-phenyl  
 31k: R<sup>1</sup> = 5-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl 32k: R<sup>1</sup> = 5-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31l: R<sup>1</sup> = 6-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl 32l: R<sup>1</sup> = 6-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31m: R<sup>1</sup> = 7-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl 32m: R<sup>1</sup> = 7-Me, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31o: R<sup>1</sup> = 6-F, R<sup>2</sup> = isopropyl 32o: R<sup>1</sup> = 6-F, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31p: R<sup>1</sup> = 7-F, R<sup>2</sup> = isopropyl 32p: R<sup>1</sup> = 7-F, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31r: R<sup>1</sup> = 6-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl 32r: R<sup>1</sup> = 6-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31s: R<sup>1</sup> = 7-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl 32s: R<sup>1</sup> = 7-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl  
 31t: R<sup>1</sup> = 8-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl 32t: R<sup>1</sup> = 8-MeO, R<sup>2</sup> = isopropyl

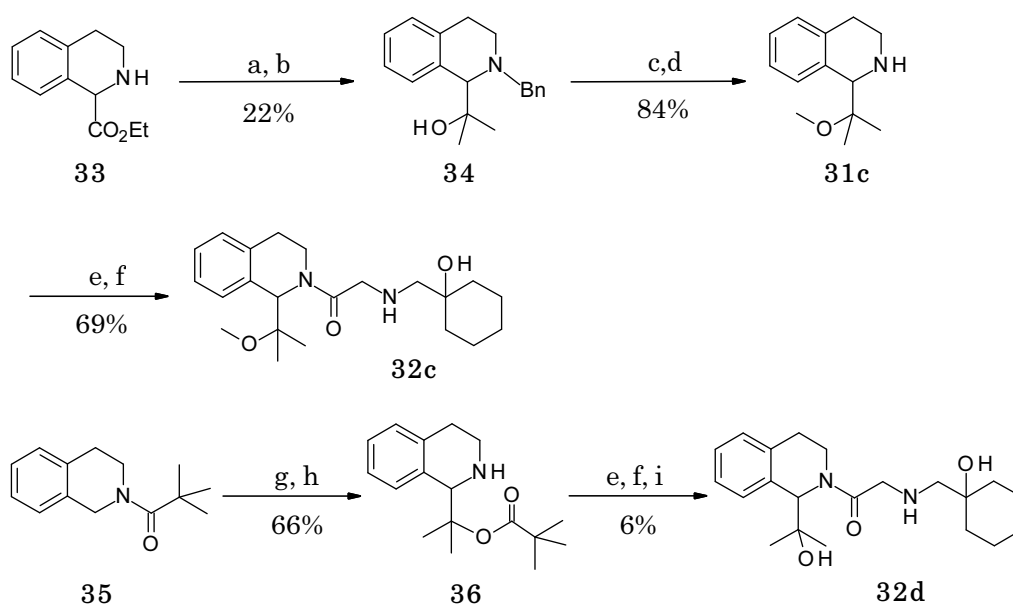


### Scheme 2. 1-置換テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成

Reagents and conditions: (a) RCO<sub>2</sub>H, WSCD, HOBT, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DMF, rt, 1 d; (b) RCOCl, sat. NaHCO<sub>3</sub>, AcOEt, rt, 3 h; (c) polyphosphate ester, 120°C, 2 h; (d) (i) FeCl<sub>3</sub>, (COCl)<sub>2</sub>, 1,2-DCE, rt, 5 h (ii) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MeOH, reflux, 12 h; (e) P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, POCl<sub>3</sub>, 120 °C, 8 h; (f) NaBH<sub>4</sub>, MeOH, rt, 1 h; (g) chloroacetyl chloride, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, AcOEt, rt, 1 h; (h) 1-(aminomethyl)cyclohexanol, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, 70 °C, 3 d; (i) 10% Pd/C, Et<sub>3</sub>N, EtOH, rt, 6 h.

化合物32cは、Scheme 3に示すように合成した。テトラヒドロイソキノリン33に対し還元的アミノ化反応にてベンジル基を導入した後、メチルリチウムを求核付加してアルコ

ール34を合成した。得られたアルコール34をメチル化後、ベンジル基を脱保護してテトラヒドロイソキノリン31cとした。テトラヒドロイソキノリン31cは2工程にて化合物32cへと誘導した。化合物32dは、Scheme 3に示すように合成した。出発原料であるピバロイル基で保護されたテトラヒドロイソキノリン35をリチオ化後、アセトンに求核付加させ、生じたアルコール体をトリフルオロ酢酸と作用させることでピバロイル基の転位を伴いながら、テトラヒドロイソキノリン36へと誘導した<sup>38a</sup>。テトラヒドロイソキノリン36をアシル化後、1-(アミノメチル)シクロヘキサノールとの置換反応に付し、ピバロイル基を脱保護して32dを合成した。



Scheme 3. 化合物 32c と 32d の合成

Reagents and conditions: (a) PhCHO, NaBH(OAc)<sub>3</sub>, AcOH, rt, 15 h; (b) MeLi, THF, -78 °C-0 °C, 3 h; (c) NaH, MeI, THF, rt, 20 h; (d) 10% Pd/C, H<sub>2</sub>, MeOH, rt, 8 h; (e) chloroacetyl chloride, sat. NaHCO<sub>3</sub>, AcOEt, rt, 2 h; (f) 1-(aminomethyl)cyclohexanol, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1,4-dioxane, 50 °C, 2 h; (g) (i) *t*BuLi, TMEDA, THF, -78 °C, 10 min (ii) then, acetone -78 °C, 1 h; (h) TFA, rt, 4 h; (i) DIBALH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C-0 °C, 7 h.

#### 第四節 薬理評価と考察

##### a) 薬理評価方法

N型カルシウムチャネル阻害作用は、IMR-32 ヒト神経芽細胞腫細胞を用い FLIPR アッセイにより評価した (Table 10)。その際、nitrendipine を用いて L型カルシウムチャネルを阻害した。いくつかの化合物については、蛍光基質として 3-[2-(*N,N*-ジエチル-*N*-メチルアンモニウム)-エチル]-7-メトキシ-4-メチルクマリン (AMMC)を用いて CYP2D6 阻害活性を評価した。CYP3A4 阻害活性は、midazolam をプローブ基質として用いることで可逆的な阻害活性 (プレインキュベーションなし) および時間依存的な阻害活性 (インキュベーション 30 分後評価) を評価した。

#### b) 構造活性相関 1

リード化合物 22c より置換基を除去した誘導体 32a は、N型カルシウムチャネル阻害活性が大きく減弱した。テトラヒドロイソキノリン C1 位にエーテル基を有する 32b および 32c は、シクロヘキシル基を有する 22c と比較しておおよそ 5 倍活性が減弱した。さらにジメチルカルビノールを導入した 32d も活性が大きく減弱した。この結果より、テトラヒドロイソキノリン C1 位への親水性置換基の導入によって、N型カルシウムチャネル阻害活性を保持させることは困難であると判断し、続いて疎水性の低減の効果について検討した。メチル基をテトラヒドロイソキノリン C1 位に導入したところ、22c と比較して約 4 倍 N型カルシウムチャネル阻害活性が弱かった。一方で、イソプロピル基、*t*ブチル基、2-エチルプロピル基の C1 位への導入により、32f, 32g, 32h は強い N型カルシウムチャネル阻害活性を示した。疎水性の環状置換基であるシクロペンチル基を有する 32i や(*S*)-フェニル基を有する(*S*)-32j もまた強い N型カルシウムチャネル阻害活性を示したことから、活性発現のためにテトラヒドロイソキノリン C1 位には疎水性置換基の存在が必要であることが分かった。今回の検討により、強い N型カルシウムチャネル阻害活性を示す化合物中では化合物 32f のイソプロピル基が最も小さな置換基であり、脂溶性の指標である cLogD<sub>7.4</sub>についても 32f が 2.37 と最も小さかった。

良好な N型カルシウムチャネル阻害活性を示す化合物について CYP2D6 および CYP3A4 の阻害活性につき評価を行った。化合物 22c と比較して、CYP2D6 阻害活性の減弱を示した化合物は一つもなかった。一方で、CYP3A4 阻害活性に関しては、32e および 32h は 22c と比較して可逆的および時間依存的な CYP3A4 阻害活性を悪化させた一方で、32i および(*S*)-32j は時間依存的な阻害活性を改善した。テトラヒドロイソキノリン C1 位の疎水性を減弱させた 32f は、可逆的および時間依存的な阻害活性をともに

減弱させた。これらの検討により、良好な N 型カルシウムチャネル阻害作用有し、可逆的および時間依存的な CYP3A4 阻害活性を回避した 32f を見出すことができた。

Table 10. テトラヒドロイソキノリンC1位への置換基導入によるN型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用への影響

Compound No.	R	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>b</sup>
				Preincubation time		
				0 min	30 min	
22c		0.77	0.78	86%	61%	3.48
32a	H	8.0	N.T.	N.T.	N.T.	1.10
32b		4.1	N.T.	N.T.	N.T.	1.51
32c		3.7	N.T.	N.T.	N.T.	1.68
32d		6.1	N.T.	N.T.	N.T.	1.07
32e	Me	2.9	N.T.	65%	33%	1.50
32f		1.1	<0.78	92%	98%	2.37
32g		0.80	<0.78	N.T.	N.T.	2.78
32h		0.73	<0.78	77%	59%	3.39
32i		0.99	<0.39	89%	84%	2.95
(S)-32j		1.0	<0.39	89%	78%	2.75

<sup>a</sup>Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>b</sup>cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

### c) 構造活性相関 2

前節にて取得した 32f が CYP2D6 阻害活性を示したため、引き続いて、32f をテンプレートとして、テトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入について検討を行った (Table 11)。メチル基を導入した誘導体 32k–32n では、6-メチル体 32l が最も良好な N 型カルシウムチャネル阻害作用を示した。しかしながら、これらの化合物はメチル基の置換位置によらず全ての化合物において 32f に比べて可逆的な CYP3A4 阻害活性が強くなった。この原因の一つに化合物の疎水性の増大の影響が考えられた。化合物 32f へのフッ素基の導入(32o–32q)においてもメチル同様に C6 位の置換体 32o が最も良好な活性を示しその活性は 6-メチル体 32l と同等であった。メトキシ基の導入(32r–32t)は、置換基の導入位置によらず良好な活性を保持したものの、32f と比較して活性向上は見られなかった。

時間依存的な CYP3A4 阻害活性に関して、テトラヒドロイソキノリン C8 位へ置換基を導入した化合物 32n, 32q, および 32t は、置換基によらずに 32f と比べて活性を増強させたのに対して、C6 位へ置換基を導入した化合物 32l, 32o, および 32r は、32f と同等の良好な活性を保持した。特に、C6 位にメトキシ基を導入した 32r は、時間依存的な CYP3A4 阻害活性のみならず可逆的な阻害活性についても良好な阻害プロファイルを示した。

CYP2D6 阻害作用については、32r のみが 32f よりもやや活性減弱を示すのみで、テトラヒドロイソキノリン部分のベンゼン環への置換基導入の影響は大きくなかった。芳香環部への置換基導入により CYP2D6 阻害活性が大きく変化することを見出した Pfizer の研究者らは、活性が大きく変化した理由について次の 3 つのように説明している<sup>36c</sup>。

- (i) 構造とコンフォメーションの違い
- (ii) 疎水性のような物理化学的性質の違い
- (iii) CYP2D6 の残基との特異的な相互作用への影響

この 3 つの観点から今回の我々の検討は以下のように説明することができる。

- (i) C1 位のイソプロピル基との間に生じる立体的な反発によるコンフォメーション変化が最も期待できるテトラヒドロイソキノリン C8 位への置換基導入では、32n, 32t に示されるように、CYP2D6 阻害作用には影響を与えなかった。但し、C1 位のイソプロピル基は比較的小さな置換基であり、今回検討した誘導体群ではコンフォメーション変化による CYP2D6 阻害作用への影響は必然的に限られ

る。また最も CYP2D6 阻害活性が弱かった 32r の C6 位へのメトキシ基導入によるコンフォメーション変化への影響は殆どないものと考えられた。

- (ii) CYP3A4 阻害活性と疎水性については部分的ではあるものの相関性が示唆されたが、CYP2D6 阻害活性と疎水性には今回の検討では相関性はみられなかった。CCR3 アンタゴニスト研究で報告されているように<sup>36a, b</sup>、より大きな疎水性の低減を行えば、CYP2D6 阻害活性の減弱が可能かもしれないが、我々の検討では、大きな疎水性の低減を行うと主活性である N 型カルシウムチャネル阻害作用が無くなってしまう可能性が高いと考えられた。
- (iii) C6 位へのメトキシ基の導入による CYP2D6 阻害活性の減弱は CYP2D6 の残基と化合物の特異的な相互作用がメトキシ基によって損なわれるか、あるいはメトキシ基のベンゼン環 $\pi$ 電子への影響によって損なわれる、あるいはその両方によって損なわれているものと考えられる。しかしながら、32r が CYP2D6 阻害活性を有していること、および置換基の種類や置換位置によらず CYP2D6 阻害活性に対して顕著な影響がないことを考えると、特異的な相互作用を置換基が改善する効果は本誘導体では大きくないと考えられた。

結論として、テトラヒドロイソキノリン C1 位の置換基がイソプロピル基のままでは、CYP2D6 阻害活性を中程度ながら示すことは不可避であるように思われた。但し、C1 位にイソプロピル基よりも大きな置換基を導入し C8 位に導入した置換基との間に生じる立体的な反発によるコンフォメーション変化が CYP2D6 阻害活性に対してどのように影響するかについては未検討事項であり、CYP2D6 阻害活性減弱の期待が残された。しかしながら、テトラヒドロイソキノリン C8 位に置換基がなく C1 位に大きな置換基を有するだけの化合物 32h, 32i, および(S)-32j は、CYP2D6 阻害活性が強い上に、その高い疎水性のため CYP3A4 阻害活性も強かった。



Table 11. 1-イソプロピルテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入によるN型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用への影響

R (Compound No.)	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>b</sup>
			Preincubation time		
			0 min	30 min	
H (32f)	1.1	<0.78	92%	98%	2.37
5-Me (32k)	1.4	<0.78	68%	87%	2.88
6-Me (32l)	0.85	<0.78	75%	105%	2.78
7-Me (32m)	1.4	<0.78	72%	103%	2.94
8-Me (32n)	1.6	<0.78	73%	82%	2.70
6-F (32o)	0.89	0.39	86%	101%	2.55
7-F (32p)	1.3	0.68	89%	81%	2.24
8-F (32q)	1.5	<0.78	100%	85%	1.92
6-MeO (32r)	1.3	1.8	94%	95%	2.55
7-MeO (32s)	1.6	N.T.	N.T.	N.T.	2.82
8-MeO (32t)	1.4	<0.78	72%	81%	2.90

<sup>a</sup>Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>b</sup>cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

#### d) (*R*)-32rおよび(*S*)-32rのプロファイリング

今回得られた32rの両エナンチオマーを合成し評価を行った (Table 12)。興味深いことに、両エナンチオマーはヒト肝ミクロソームに対する代謝安定性以外にはほぼ同等のプロファイルを示した。またラセミ体 비해、(*R*)-32rおよび(*S*)-32rのN型カルシウムチャネル阻害作用はやや弱かった。アッセイ誤差の可能性は排除できないが、リード化合物22cでも類似の結果が得られていること、さらにZalicusの研究者もN型カルシウムチャネル阻害剤で同様な事象を報告していることからPfeiffer則の例外の可能性が示唆され

た<sup>16c, 41</sup>。(R)-32rは(S)-32rやラセミ体に比べCYP2D6阻害作用がやや弱かった。また(R)-32rは他のCYP分子種に対する阻害活性プロファイルは非常に良好であり、hERG阻害作用もなかった。ヒト肝ミクロソームに対する代謝安定性に関しては、(R)-32rは(S)-32rに対して約2倍安定であった((R)-32r CL = 101.1 ml/min/kg, (S)-32r CL = 187.8 ml/min/kg)。

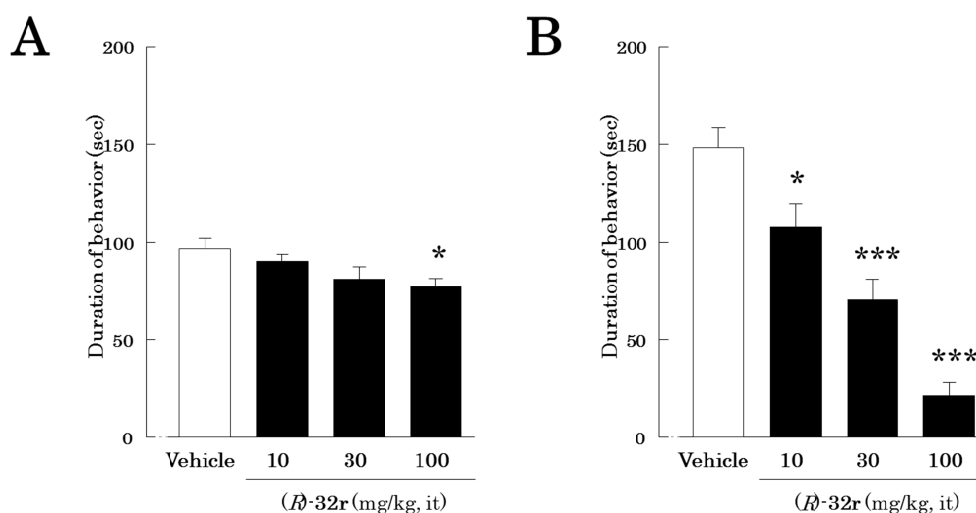
Table 12. (R)-32r と(S)-32r の in vitro 薬理プロファイル

Compound	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	hERG IC <sub>50</sub> (μM)	Major CYP isoforms					
			1A2 IC <sub>50</sub> (μM)	2C9 IC <sub>50</sub> (μM)	2C19 IC <sub>50</sub> (μM)	2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>	
							Preincubation time	
							0 min	30 min
(R)-32r	1.9	>100	>50	>50	>50	2.9	99%	92%
(S)-32r	2.1	>100	>50	>50	N.T.	2.0	96%	99%

<sup>a</sup>Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate.

マウスホルマリン試験により(R)-32rの痛覚への作用を調べた(Figure 11)。ホルマリンをマウス後肢へ皮下注射すると2相性の痛覚応答を示すことが知られている。ホルマリン投与後10分くらいまでに生じる第I相反応は、痛覚神経への直接的な刺激に対する応答であり、10分から60分くらいまでに生じる第II相反応は、その末梢応答に加え中枢感作に対する応答の融合であるとされている。(R)-32rは、髄腔内投与により用量依存的に第I相および第II相ともに痛覚行動抑制効果を示した。とりわけ、(R)-32rは第II相反応に対して高選択的に抑制効果を示した。本試験において被検マウスに異常行動の所見は認められなかった。この結果は、α1B欠損マウスを用いたホルマリン試験に関する知見<sup>10</sup>やZalicusの研究者がNP118809(14)およびNP078585(15)を用いて検討した結果<sup>16a</sup>と類似する内容であり、(R)-32rは脊髄のN型カルシウムチャネル阻害作用に基づいて鎮痛効果を発揮しているものと考えられた。

さらに、100 mg/kg経口投与にて、(R)-32rは第II相反応に対して64%の強い坑侵害受容効果を示した一方で、(S)-32rは34%の中程度の効果しか示さなかった。両化合物のヒト肝ミクロソームに対する安定性の違いを考えるとPKプロファイルの違いが坑侵害受容効果の違いに影響したものと推察された。



**Figure 11.** マウスホルマリン試験における(*R*)-32r の髄腔内ボーラス(it bolus)投与の疼痛行動への影響 (A) 急性 (phase 1: 0–10 min) および (B) 持続性 (phase 2: 15–25 min)

The duration of nociceptive behaviors (lifting/licking time of the hindpaw) induced by subcutaneous injection of 2% formalin (20 µL) into the plantar surface of the hindpaw was measured. Each bar represents the mean ± SEM of the duration of nociceptive behaviors (n = 6). \*P < 0.05 and \*\*\*P < 0.001, statistically significant compared with vehicle-treated group (Dunnett's test).

神経障害性疼痛モデル SNL モデルにおける(*R*)-32r の機械刺激に対する効果を評価した (Figure 12)。その結果、(*R*)-32r は経口投与時、1 mg/kg から 10 mg/kg まで用量依存的に鎮痛効果を示し、その ED<sub>50</sub> 値は 2.5 mg/kg であった。この SNL モデルにおける機械刺激に対する効果もやはりα1 欠損マウスを用いた SNL モデルにおける機械刺激に対する効果と一致するものであった<sup>10a</sup>。SNL モデルにおける鎮痛効果は、ホルマリン試験に関する検討と併せて考えれば、中枢感作過程に対する抑制によって生じているものと考えられた。さらに(*R*)-32r は、30 mg/kg 経口投与時に rotarod 試験において落下時間の減少を認めなかった。一方で、ペプチド型 N 型カルシウムチャネル阻害剤である ziconotide (8)は、SNL モデルにおいて鎮痛効果を示す ED<sub>50</sub> 値と中程度から重度の行動毒性を示す TD<sub>50</sub> 値との間にほとんどマージンが存在しないことが報告されていることから<sup>42</sup>、筆者らが見出した低分子 N 型カルシウムチャネル阻害剤は ziconotide(8)とは異

なり、中枢性副作用を伴わずに神経障害性疼痛に対して鎮痛効果を発揮することが期待された。

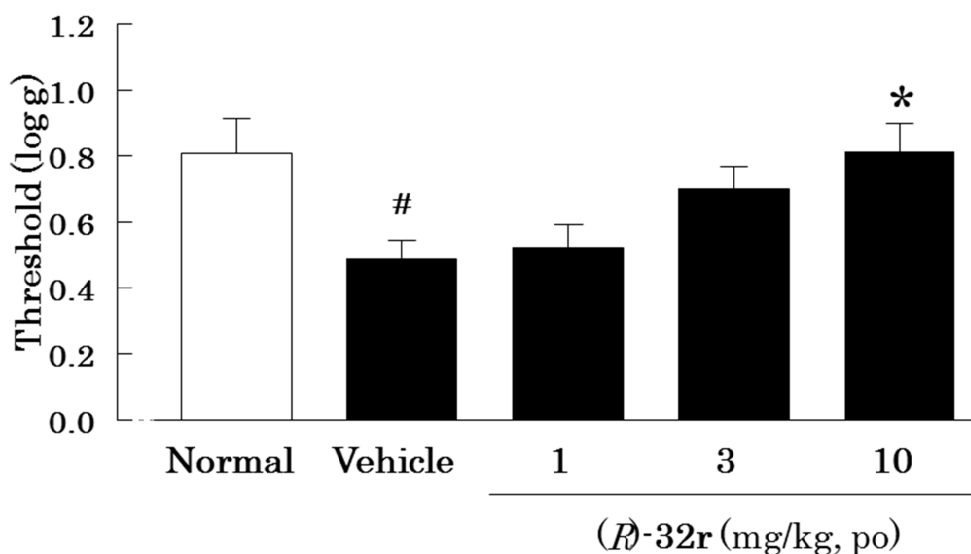


Figure 12. ラット SNL モデルを用いた(R)-32r の機械性アロディニアへの効果

Each bar represents the mean  $\pm$  SEM withdrawal threshold of the hindpaw (n = 8). #P <0.05, statistically significant compared with non-operated side paw in vehicle-treated group (Normal) (Student's t-test). \*P <0.05, statistically significant compared with operated side paw in vehicle-treated group (Dunnett's test). Closed columns, operated side paw in drug-treated and vehicle-treated group. Open column, non-operated side paw in vehicle-treated group.

### 第五節 第三章まとめ<sup>43</sup>

筆者らは、(S)-22cのCYP2D6および3A4阻害作用の減弱を狙って構造最適化を行った。その際、疎水性の低減を目的にテトラヒドロイソキノリンC1位の構造最適化を行ってCYP3A4阻害作用を低減し、N型カルシウムチャネル阻害作用を保持した32fを得た。さらに32fのテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環への置換基導入について検討した結果、CYP2D6が減弱した32rを見出した。この32rの両エナンチオマーを合成した結果、(R)-32rは神経障害性疼痛モデルにおいて経口投与にてED<sub>50</sub> = 2.5 mg/kgの良好な鎮痛効果を示した。また二相性の痛覚応答を示すマウスホルマリン試験において、(R)-32rの髄腔内投与により第II相反応に対して高選択的に抑制効果を示したことから、鎮痛効果は主に中枢感作過程に対する抑制によって生じているものと考えられた。(S)-22cおよび(R)-32rは、ともにrotarod試験において協調運動障害は確認されなかったことから、我々

が見出した低分子N型カルシウムチャンネル阻害剤は、ziconotide (8)とは異なり、中枢性副作用を伴わずに鎮痛効果を発揮することが期待された。

## 第四章 2-[[*(2R)*-2-ヒドロキシプロピル]アミノ]-1-[(*(1S)*-8-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(*(1H)*-イル)] )エタノンの発見

### 第一節 はじめに

第三章において筆者らは、(*S*)-22c の CYP2D6 および 3A4 阻害作用の減弱を目指して構造最適化を行い、(*R*)-32r を見出した。(*R*)-32r は N 型カルシウムチャンネル阻害作用を保持しつつ良好な CYP3A4 阻害プロファイルを有していたが、未だ中程度の CYP2D6 阻害作用を有していた。そこで更なる CYP2D6 阻害作用の減弱を目指して研究を継続した。

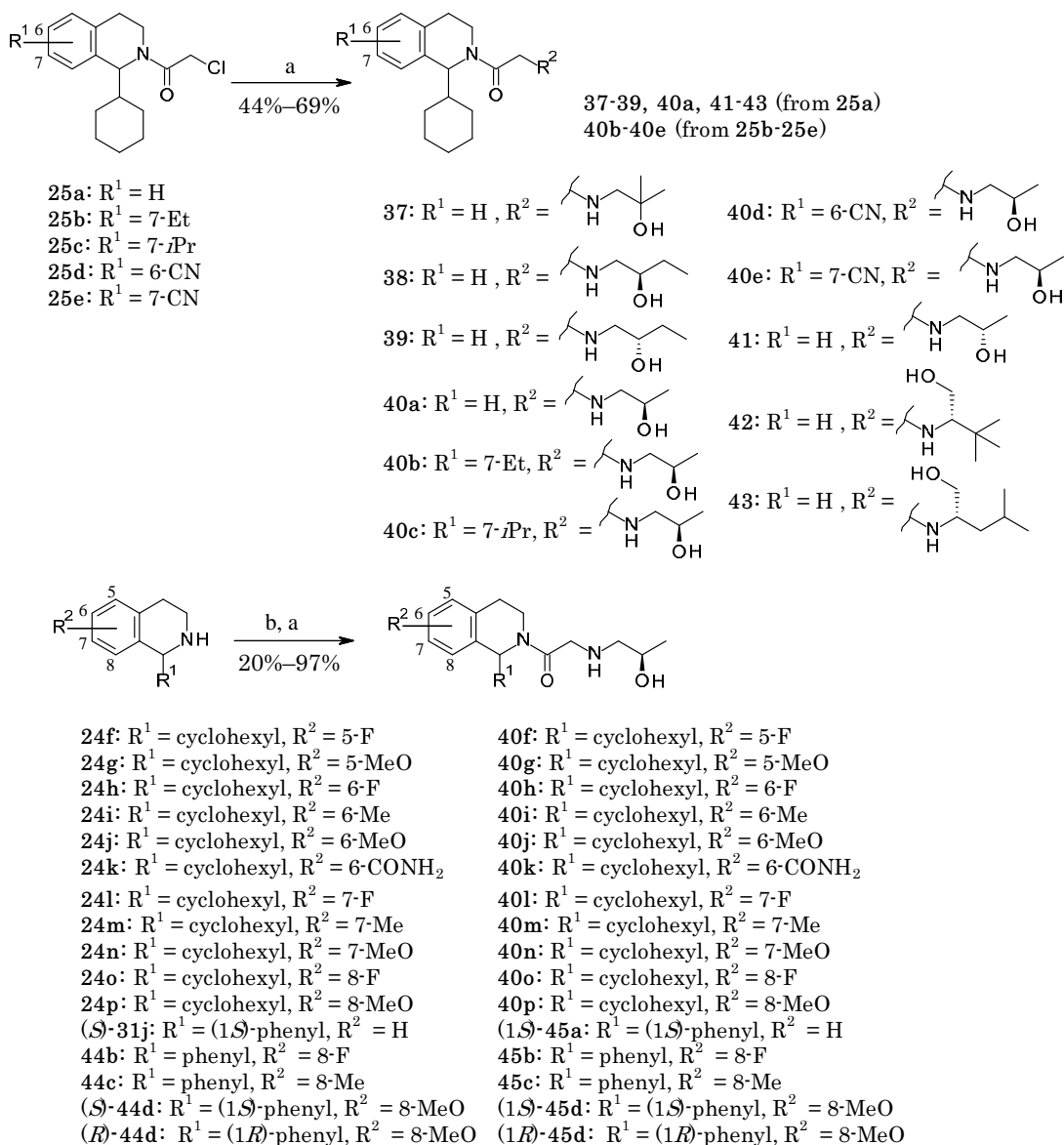
### 第二節 CYP2D6 および 3A4 阻害回避の合成方針

前章における検討の結果、(*R*)-32r の更なる構造最適化による CYP2D6 阻害作用の減弱は困難であると考えられた。この検討においては、テトラヒドロイソキノリン C1 位にイソプロピル基よりも大きな置換基を導入し、C8 位に導入した置換基との間に生じる立体的な反発によるコンフォメーション変化が CYP2D6 阻害活性に対してどのように影響するかは未検討事項であり、CYP2D6 阻害活性減弱の期待が残された。そこで、22c の C1 位にシクロヘキシル基を残して再度構造最適化を検討することとした。前章の検討より 22c の脂溶性を減弱させることで CYP3A4 阻害活性を減弱した化合物の取得が可能であると考えられたため、cLog D<sub>7.4</sub> を疎水性の指標として化合物右末のヒドロキシシクロヘキシル基の変換を検討した。さらに、筆者らは CYP2D6 阻害減弱を目的として前章同様テトラヒドロイソキノリンのベンゼン環への置換基導入について検討することとした。効率的なスクリーニングのため(*S*)-45a と 45d 以外はジアステレオ混合物として評価した。念のため、ジアステレオ混合物と生理活性アイソマーとの間に in vitro 薬理的プロファイルに大きな差がないことは、40a と(*S*)-40a によって確認した。

### 第三節 テトラヒドロイソキノリン誘導体の合成

テトラヒドロイソキノリン誘導体は Scheme 4 に示すように合成した。出発原料クロロアセトアミド (25a–25e) をアミンと反応させることでテトラヒドロイソキノリン誘導体(37–39, 40a–40e, および 41–43)を得た。光学活性な (*S*)-40a は、(*S*)-25a<sup>30</sup> と (*2R*)-1-アミノ-2-プロパノールの置換反応により合成した。テトラヒドロイソキノリン誘導体(40f–40p, 45b, 45c, (*S*)-45d, および(*1R*)-45d)は、対応するテトラヒドロイソキノ

リン(24f–24p, 44b, 44c, (*S*)-44d, および(*R*)-44d)よりアシル化及びそれに続くアルキル化の2工程にて合成した。光学活性な(1*S*)-45aは、市販の(1*S*)-31jより誘導した。(1*S*)-44dの絶対立体化学は、その合成中間体である(1*S*)-55にてVCD(赤外円二色性)分光法を用いた分析を行って決定した<sup>44</sup>。クロロアセトアミド(25b–25e)とテトラヒドロイソキノリン(24f–24p, 44b, 44c, (*S*)-44d, および(*R*)-44d)は実験の部に示す要領にて合成した。



**Scheme 4. 1-シクロヘキシルおよび1-フェニルテトラヒドロイソキノリン誘導体の合成**

Reagents and conditions: (a) amine, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeCN, 60 °C, 3 h; (b) chloroacetyl chloride, sat. NaHCO<sub>3</sub> aq, AcOEt, rt, 1 h.

#### 第四節 薬理評価と考察

##### a) 薬理評価方法

N型カルシウムチャネル阻害作用は、IMR-32 ヒト神経芽細胞腫細胞を用い FLIPR アッセイにより評価した (Table 13)。その際、nitrendipine を用いて L型カルシウムチャネルを阻害した。抗侵害受容作用は、マウスホルマリン試験第 II 相に対する抑制効果にて評価した。いくつかの化合物については、蛍光基質として AMMC を用いて CYP2D6 に対する阻害活性を評価した。CYP3A4 阻害活性については、midazolam をプローブ基質として用いることで可逆的な阻害活性 (プレインキュベーションなし) および時間依存的な阻害活性 (インキュベーション 30 分後評価) を評価した。

##### b) 構造活性相関 1

化合物 22c 右末のヒドロキシシクロヘキシル基をヒドロキシジメチル基に変換した 37 は、22c に比べて約 2 倍 N型カルシウムチャネル阻害作用が減弱した。ヒドロキシブチルアミン(38, 39)やヒドロキシプロピルアミン(40a, 41)への変換は、22c に比べて 2 から 2.5 倍 N型カルシウムチャネル阻害作用が減弱した。疎水性の高い 42 は、38 や 41 とほぼ同等の N型カルシウムチャネル阻害作用であった。またもう一つの疎水性化合物 43 も 22c に比べるとやや N型カルシウムチャネル阻害作用が減弱した。これらの結果より、この部分の疎水性と N型カルシウムチャネル阻害作用には相関がないことが分かった。続いてこれらの化合物のマウスホルマリン試験第 II 相に対する抗侵害受容作用を評価した。化合物 37 は抗侵害受容作用を示さなかった。化合物 38 および 39 については、弱い抗侵害受容作用を示すのみであった。化合物 41 は抗侵害受容作用を示さなかったが、40a および 42 は中程度ながら抗侵害受容作用を示した。化合物 43 は、40a および 42 に比べやや弱い抗侵害受容作用であった。

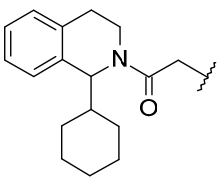
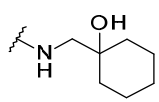
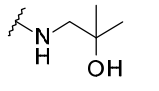
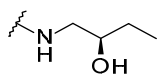
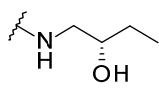
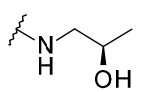
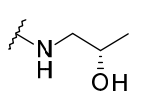
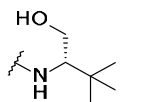
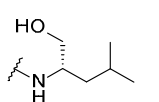
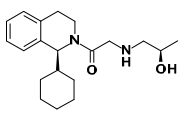
CYP2D6 阻害活性については、これまでの検討同様、疎水性との相関性はあいまいなものであった。但し、化合物 38, 40a および 41 といった疎水性の低い化合物は、22c に比べてやや活性が減弱した。一方で疎水性の高い 42 や 43 は強力な阻害活性を示した。

CYP3A4 阻害活性は、CYP2D6 阻害活性とは異なりある程度疎水性との相関性が認められた。疎水性が下がったことで 38 および 39 ( $c\text{LogD}_{7.4} = 2.60$ )は時間依存的な阻害作用が 22c ( $c\text{LogD}_{7.4} = 3.48$ )に比べ改善した。38 および 39 に比べさらに疎水性が下がった 40a および 41( $c\text{LogD}_{7.4} = 2.53$ )は良好な可逆的および時間依存的な阻害活性を示した。一方で 22c よりも疎水性の高い 42 および 43 ( $c\text{LogD}_{7.4} > 3.7$ )は 22c と比べて顕著な阻害



プロファイルの悪化を示した。総合すると、(2*R*)-ヒドロキシプロピルアミノ基を有する40aが最も好ましいプロファイルを有していた。さらに、光学活性な(1*S*)-40aは、40aとほぼ同等の*in vitro* プロファイルを示し、*in vivo* 抗侵害受容作用は、40aよりも強力で良好なものであった。

Table 13. 1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリン誘導体のN型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用への影響

	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	Formalin test %inhibition <sup>a</sup>	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>b</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>c</sup>
				Preincubation time		
				0 min	30 min	
Compound No.						
22c 	0.77	62	0.78	86%	61%	3.48
37 	1.7	7.7	N.T.	N.T.	N.T.	2.94
38 	1.5	19	1.0	87%	88%	2.60
39 	1.9	27	<0.3	81%	83%	2.60
40a 	2.0	39	1.1	92%	95%	2.53
41 	1.5	0	1.6	96%	91%	2.53
42 	1.4	40	0.068	65%	33%	3.77
43 	1.1	32	0.044	69%	46%	3.80
 (1S)-40a	1.7	55	1.4	105%	87%	2.53

<sup>a</sup> at 100 mg/kg *p.o.* <sup>b</sup> Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>c</sup>

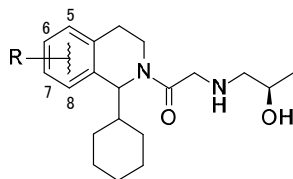
cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

### c) 構造活性相関 2

続いて 40a をテンプレートとしてテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入を検討した (Table 14)。テトラヒドロイソキノリン C5 位へフッ素基を導入した 40f は、N 型カルシウムチャネル阻害活性を向上させたものの、メトキシ基を導入した 40g は、N 型カルシウムチャネル阻害活性に影響がなかった。化合物 40f および 40g はともに CYP3A4 に対する時間依存的な阻害活性が 40a より強くなった。テトラヒドロイソキノリン C6 位へ置換基を導入した化合物(40h, 40i, 40j, 40d, および 40k)の中では、フッ素体 40h が最も良好な N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。シアノ体 40d やカルバモイル体 40k といった親水性置換基の C6 位への導入は N 型カルシウムチャネル阻害活性の減弱か消失をもたらした。テトラヒドロイソキノリン C6 位にフッ素基を有する 40h およびメトキシ基を有する 40j はともに 40a 同様に望ましい CYP3A4 阻害活性プロファイルを示した。テトラヒドロイソキノリン C7 位への置換基導入は、フッ素基 40l およびシアノ基 40e 以外は比較的強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。特にエチル基を有する 40b は本検討中で最も強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。しかしながら、C7 位に置換基を有する化合物、とりわけ疎水性の高いアルキル置換基をもつ 40b ( $c\text{LogD}_{7.4} = 3.63$ ) および 40c ( $c\text{LogD}_{7.4} = 3.29$ ) は、CYP3A4 に対する時間依存的な阻害作用が 22c より強くなった。8-メトキシ体 40p は、8-フッ素体 40o よりも強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。8-メトキシ体 40p ( $c\text{LogD}_{7.4} = 3.07$ ) は、疎水性の高さのために可逆的および時間依存的な CYP3A4 阻害活性が 40a に比べ悪化した。N 型カルシウムチャネル阻害活性に関して本誘導体には明確な構造活性相関はなかった。しかしながら、強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示す化合物 ( $\text{IC}_{50} < 2 \mu\text{M}$ ) はある程度の疎水性( $c\text{LogD}_{7.4} > 2.3$ )を有していた。

CYP2D6 阻害活性については、評価化合物中 7-メトキシ体 40n と 8-メトキシ体 40p において減弱傾向が確認された。7-メトキシ体 40n は、40a に比べ 3 倍以上活性が減弱した。さらに、8-メトキシ体 40p は、本研究における検討で初めて顕著な活性の減弱を示した ( $\text{IC}_{50} = 30.3 \mu\text{M}$ ) .

Table 14. 1-シクロヘキシルテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入によるN型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用への影響



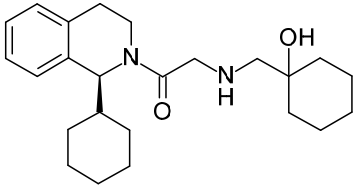
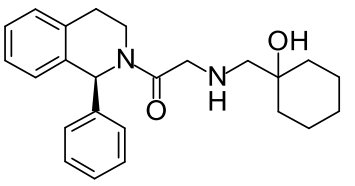
R (Compound No.)	N-type	CYP2D6	CYP3A4 <sup>a</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>b</sup>
	FLIPR	IC <sub>50</sub> (μM)	preincubation time		
	IC <sub>50</sub> (μM)		0 min	30 min	
H(40a)	2.0	1.1	92%	95%	2.53
5-F (40f)	1.2	<0.39	95%	49%	2.34
5-MeO (40g)	2.0	<0.78	107%	63%	3.08
6-F (40h)	1.6	1.6	92%	91%	2.71
6-Me (40i)	2.4	N.T.	N.T.	N.T.	2.96
6-MeO (40j)	1.9	<0.78	93%	97%	2.72
6-CN (40d)	3.1	N.T.	N.T.	N.T.	2.05
6-CONH <sub>2</sub> (40k)	>10	N.T.	N.T.	N.T.	1.31
7-F (40l)	2.3	1.3	109%	80%	2.39
7-Me (40m)	1.7	N.T.	N.T.	N.T.	3.12
7-Et (40b)	0.89	1.3	85%	65%	3.63
7-iPr (40c)	1.3	1.9	88%	43%	3.29
7-MeO (40n)	1.6	3.7	97%	83%	2.99
7-CN (40e)	2.6	N.T.	N.T.	N.T.	2.30
8-F (40o)	2.5	N.T.	N.T.	N.T.	2.05
8-MeO (40p)	1.4	30.2	85%	58%	3.07

<sup>a</sup> Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>b</sup> cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

d) 構造活性相関 3

8-メトキシ体 40p は、CYP2D6 阻害活性において 40a と比べて顕著な減弱を示したものの、その高い疎水性のために CYP3A4 阻害作用プロファイルは 40a よりも悪化した。そこで次に両 CYP 阻害作用の改善を両立させるべく更なる最適化を行った (Table 15)。第三章における検討時に見出された (*S*)-32j は、(*S*)-22c と同等の強力な N 型カルシウムチャネル阻害活性を有する。さらに (*S*)-32j は、(*S*)-22c 同様にテトラヒドロイソキノリン C1 位に嵩高い置換基を有し、より疎水性が低い ((*S*)-32j  $c\text{LogD}_{7.4} = 2.75$  に対し、(*S*)-22c  $c\text{LogD}_{7.4} = 3.48$ )。

Table 15. (*S*)-22c および (*S*)-32j の N 型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6 および CYP3A4 阻害作用

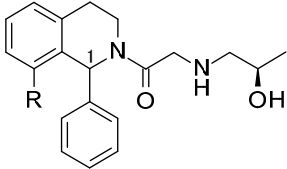
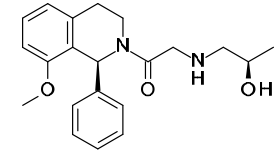
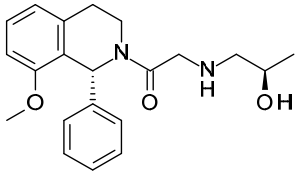
Compound	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>b</sup>
			Preincubation time		
			0 min	30 min	
 <p>(<i>S</i>)-22c</p>	1.0	0.60	87%	67%	3.48
 <p>(<i>S</i>)-32j</p>	1.0	<0.39	89%	78%	2.75

<sup>a</sup> Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>b</sup> cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

これまで、疎水性と CYP3A4 阻害プロファイルがある程度の相関を示していたことを考えるとテトラヒドロイソキノリン C1 位をシクロヘキシル基からフェニル基に変換し、C8 位に置換基を導入することで CYP2D6 および 3A4 阻害作用の改善を両立させること

ができると考えられた (Table 16)。合成した C1 位にフェニル基を有する(1*S*)-45a は、対応するテトラヒドロイソキノリン C1 位にシクロヘキシル基を有する(1*S*)-40a と比べ、やや N 型カルシウムチャネル阻害活性が減弱したものの、期待通りほぼ同等な in vitro プロファイルを示した。C8 位にフッ素基を導入した化合物 45b は、低い疎水性ながら例外的に強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。メチル基を導入した化合物 45c も同様に、良好な N 型カルシウムチャネル阻害活性を示した。8-メトキシ体のうち、テトラヒドロイソキノリン C1 位が *S* の立体化学を持つ(1*S*)-45d は、対掌体(1*R*)-45d よりも強い N 型カルシウムチャネル阻害活性を示しその活性は、45c と同等の良好なものであった。40p と比べて疎水性が低いこれらの化合物は、期待通り良好な CYP3A4 阻害プロファイルを示した。CYP2D6 阻害活性に関しては、8-フッ素体 45b では、強い阻害作用を示したものの、8-メチル体 45c は(1*S*)-45a よりも 2 倍以上弱い阻害活性であった。さらに、8-メトキシ体(1*S*)-45d は、完全に阻害活性が消失した。このことは、我々の予想によく一致するものであり、テトラヒドロイソキノリン C1 位と C8 位の置換基によって引き起こされる立体反発によるコンフォメーション変化が CYP2D6 阻害回避に大きな影響を与えたものと考えられた。

Table 16. 8-置換テトラヒドロイソキノリン誘導体のN型カルシウムチャネル阻害作用、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用

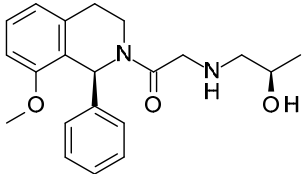
R (Compound No.)	N-type FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)	CYP2D6 IC <sub>50</sub> (μM)	CYP3A4 <sup>a</sup>		cLogD <sub>7.4</sub> <sup>b</sup>
			Preincubation time		
			0 min	30 min	
 (1 <i>S</i> )-45a R = H (45a)	2.4	2.2	98%	94%	1.80
R = F (45b)	1.0	1.3	103%	95%	1.33
R = Me (45c)	1.3	5.6	100%	89%	2.14
 (1 <i>S</i> )-45d R = OMe (45d)	1.4	>50	94%	90%	2.35
 (1 <i>R</i> )-45d R = OMe (45d)	3.3	17.9	110%	91%	2.35

<sup>a</sup> Residual activities (%) of HLM were evaluated using midazolam as a probe substrate. <sup>b</sup> cLogD values at pH 7.4 were calculated with ACD/PhysChem Batch (version 12.01).

e) (1*S*)-45d のプロファイリング

CYP2D6および3A4阻害作用をともに回避した(1*S*)-45dについてさらなるプロファイリングを行った (Table 17)。(1*S*)-45dは、CYP1A2, 2C9, 2C19に対する阻害活性はいずれも示さなかった。hERGおよびL型カルシウムチャネルへの阻害活性に対しては十分な選択性があることがわかった。さらに、ヒト肝ミクロソームに対する安定性は、リード化合物(*S*)-22cの約5倍安定であった(CL 223.4 ml/min/kgに対し、45.9 ml/min/kg)。

Table 17. (1*S*)-45d のCYP, hERGおよびL型カルシウムチャネルに対する阻害作用

Compound	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	hERG	L-type
	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	FLIPR IC <sub>50</sub> (μM)
 <p>(1<i>S</i>)-45d</p>	>50	>50	>50	>100	>10

(1*S*)-45d はマウスホルマリン試験において 100 mg/kg 経口投与にて第 II 相反応に対して 77%の強い抗侵害受容効果を示した。さらに、SNL モデルにおける機械刺激に対する効果を評価した結果、(1*S*)-45d は 0.3 mg/kg から 10 mg/kg 経口投与時まで用量依存的に鎮痛効果を示し、その ED<sub>50</sub> 値は 2.8 mg/kg であった (Figure 13)。



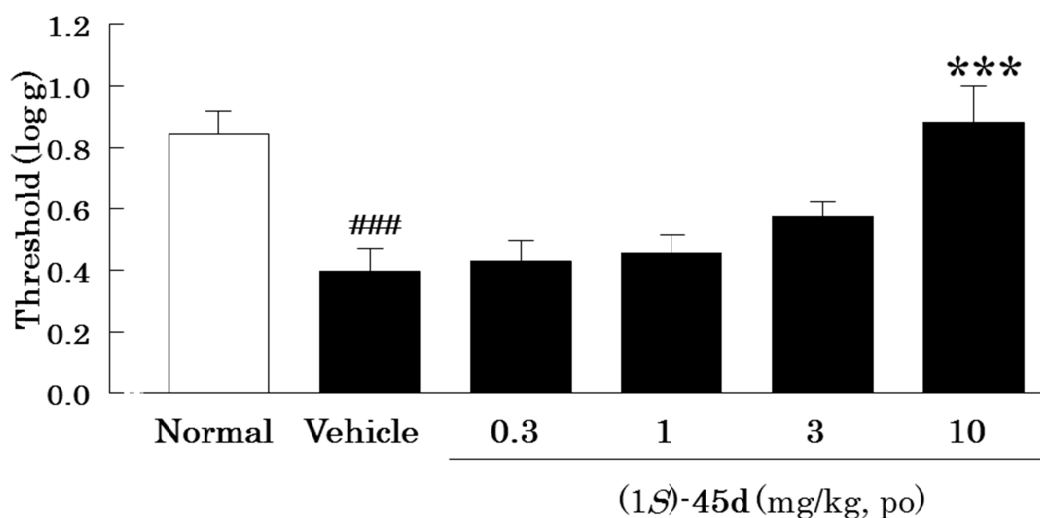
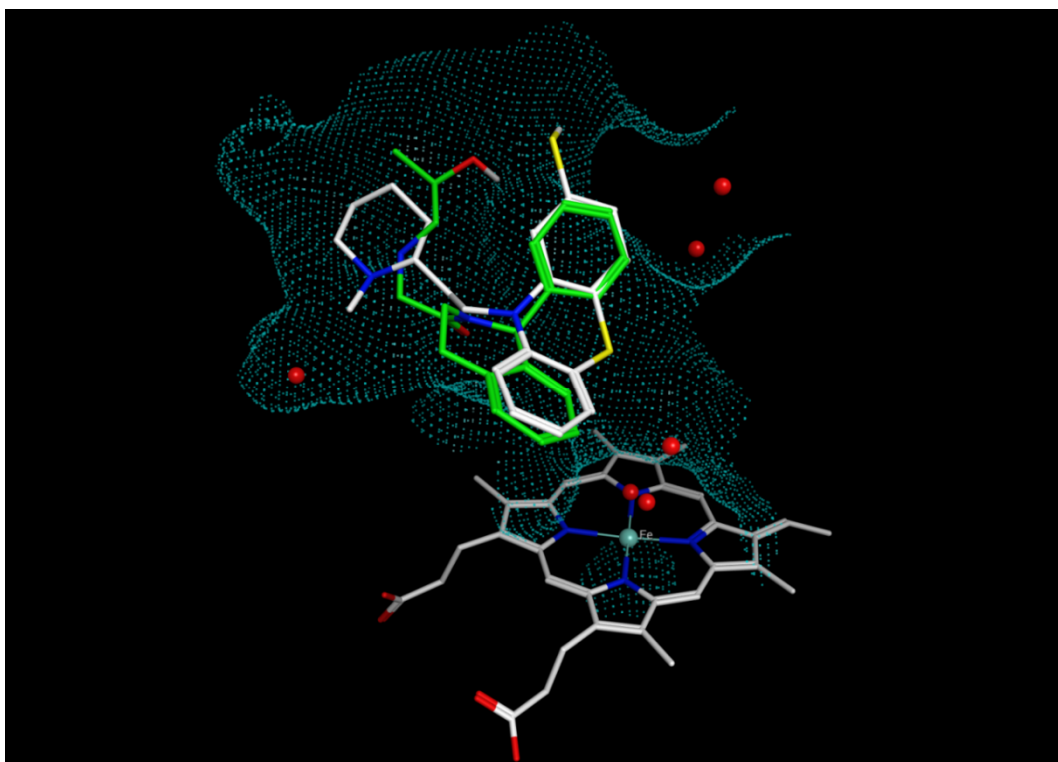


Figure 13. ラット SNL モデルを用いた(1*S*)-45d の機械性アロディニアへの効果  
 Each bar represents the mean ± SEM withdrawal threshold of the hindpaw (n=8). <sup>###</sup>P <0.001, statistically significant compared with normal group (Student's t-test). <sup>\*\*\*</sup>P <0.001, statistically significant compared with the vehicle-treated group (Dunnett's test). Closed columns, operated side paw in the drug-treated and vehicle-treated group. Open column, non-operated side paw in the vehicle-treated group.

f) CYP2D6 阻害作用回避についての考察

CYP2D6 阻害剤である 10-{2-[(2*R*)-1-メチルピペリジン-2-イル]エチル}-2-(メチルスルファニル)-10*H*-フェノチアジン(RTZ)は、その共結晶 X 線構造解析の結果<sup>45</sup>よりヘム部分とは異なるサイトで CYP2D6 と相互作用していることが知られている。(1*S*)-45d が CYP2D6 阻害回避した理由について考察する目的で、本構造情報を活用し(1*S*)-45a と CYP2D6 のドッキングを行った (Figure 14)。



**Figure 14a.** (1*S*)-45a のドッキングモードおよびヒト CYP2D6 と RTZ の共結晶構造

Only the hetero molecules in the binding site are shown for clarity with the atoms colored as nitrogen - blue, oxygen - red, Fe - light blue, and carbon - white or green. The wall of the binding site is represented as a blue dotted surface and waters kept in the docking study are shown as red spheres. White carbon: RTZ and heme in the crystal structure of human CYP2D6 (PDB ID: 3TBG). Green carbon: Docked conformation of (1*S*)-45a. (1*S*)-45a and RTZ occupied the same site, with aromatic and basic features in common position.

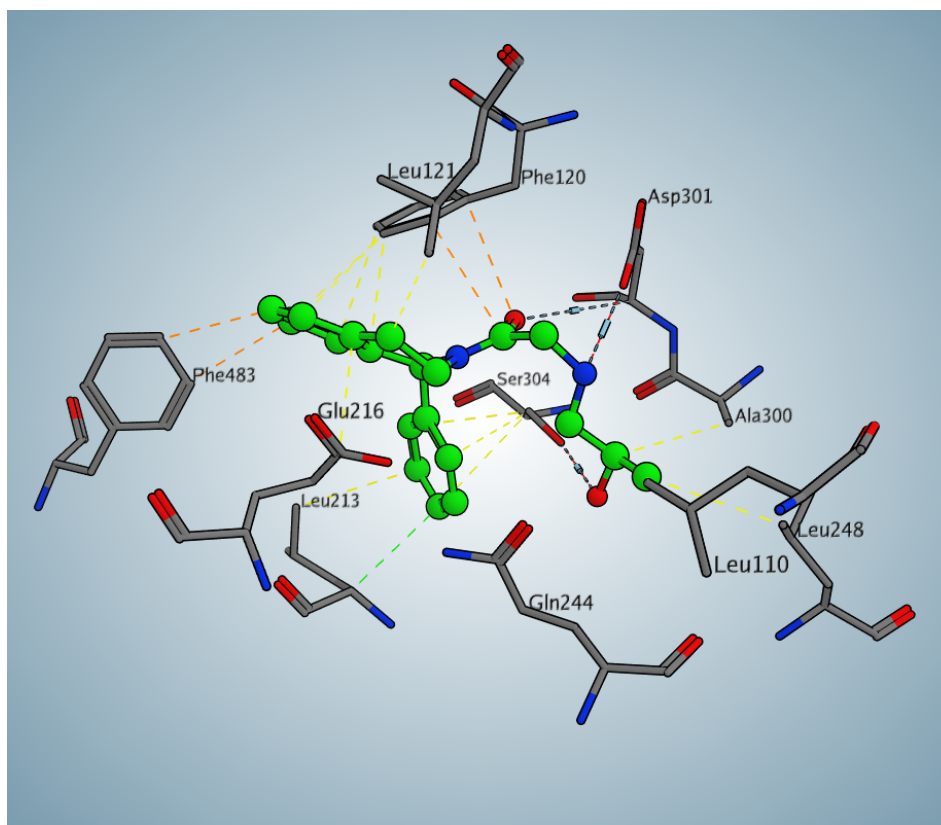


Figure 14b. (1*S*)-45a のドッキングモードにおいてヒト CYP2D6 残基との間で観察された相互作用

(1*S*)-45a is depicted as ball-and-stick model with the same color scheme as Figure 14a. Three hydrogen bonds (light blue rod) and many hydrophobic interactions (green: donor- $\pi$ , orange:  $\pi$ - $\pi$ , and yellow: van der Waals, indicated by Scorpion) are observed between (1*S*)-45a and CYP2D6, which support its potent inhibition of CYP2D6. Both Figure 14a and 14b were created using MOE 2013.

(1*S*)-45a のテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分および C1 位のフェニル基は、RTZ のフェノチアジン環と重なり合っており、(1*S*)-45a と RTZ の塩基性部分はともに Asp<sup>301</sup> と塩橋を形成していた。この Asp<sup>301</sup> との相互作用は多くの CYP2D6 阻害剤で想定されている典型的な相互作用である<sup>36c</sup>。また(1*S*)-45a の水酸基は、Ser<sup>304</sup> の水酸基部分と水素結合を形成していた。さらに(1*S*)-45a は、多くの阻害剤が相互作用をしている Phe<sup>483</sup> と疎水性相互作用を形成していた。他にも、Phe<sup>120</sup>, Leu<sup>121</sup>, Leu<sup>213</sup>, Glu<sup>216</sup>, Leu<sup>248</sup>, Ala<sup>300</sup> との相互作用が観測された。Phe<sup>120</sup>, Glu<sup>216</sup>, Phe<sup>483</sup> と相互作用している (1*S*)-45a のテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分のポケットは、ベンゼン環部分に水平方向に空間が広がっており、ベンゼン環上への置換基導入が許容される空間が存

在する。今回の検討では、テトラヒドロイソキノリン C8 位へのメトキシ基導入以外の置換基導入では、顕著な CYP2D6 阻害への影響は見られなかったが、ドッキング解析はこの結果を良く説明している。一方で、C8 位へのメトキシ基の導入による CYP2D6 阻害への影響については以下のように考察した。

すなわち、テトラヒドロイソキノリン C1 位のフェニル基平面は Ser<sup>304</sup> や Leu<sup>213</sup> によって形成されるポケットに収まっている。このポケットはフェニル基の垂直方向上下に Ser<sup>304</sup> と Leu<sup>213</sup> がそれぞれ存在するため、フェニル基の垂直方向に対して比較的狭くなっている。すなわち、テトラヒドロイソキノリンと C1 位のフェニル基の二つの平面が成す二面角が CYP2D6 との相互作用に重要であることが示唆される。このモデルにおける(1*S*)-45a の二面角は、114.8 度であった。ところで、テトラヒドロイソキノリンと C1 位のフェニル基の二つの平面が成す二面角は、最安定コンフォメーションにおける両化合物の比較から 8-メトキシ基の有無によって 15 度程度異なることが分かった(145.8 度 vs. 130.2 度)<sup>46</sup>。先のドッキング解析の結果と併せて考えると、(1*S*)-45a の C8 位にメトキシ基を導入したことで C1 位のフェニル基との間に立体反発を生じ、テトラヒドロイソキノリンと C1 位のフェニル基の二つの平面が成す二面角が変化したことで、フェニル基が Ser<sup>304</sup> と Leu<sup>213</sup> によって形成されるポケットに収まらなくなり、(1*S*)-45d が CYP2D6 阻害を示さなくなったものと考えられた。

これまでも Pfizer の研究者らが報告しているようなベンゼン環上の置換基導入や化合物の疎水性低減のような経験則に基づいた CYP2D6 阻害回避についていくつかの報告が存在する<sup>36, 37</sup>。一方で、これらの経験則に基づいたアプローチが上手くいかない、あるいは主薬効や ADMET プロファイルとの両立を考慮した場合に、これらのアプローチが適用できない等の場合には、CYP2D6 酵素のポケットが非常に大きく可動性に富むためその阻害活性回避は今回の検討のように非常に困難なものとなる。今回、結果論ではあるものの分子ドッキングの手法は多くの有用な示唆を与えた。これまでのところ CYP2D6 阻害に関する知見は限られており、non-heme binder とヒト CYP2D6 との X 線結晶構造解析の報告も前述の RTZ における解析のみである。CYP2D6 酵素のポケットが非常に大きく可動性に富むことを考えれば、CYP2D6 阻害剤が結合するサイトは他にもあるはずであり、更なる CYP2D6 の構造化学的研究が望まれる。

#### 第五節 第四章まとめ <sup>47</sup>

筆者らは、再度リード化合物(*S*)-22cのCYP2D6および3A4阻害作用減弱を狙って構造最適化を行った。その際、第三章における検討よりCYP2D6阻害作用の減弱のためには、テトラヒドロイソキノリンC1位に大きな置換基を残す必要が示唆された。そこでC1位にシクロヘキシル基を残し最適化を行った。まず、CYP3A4阻害活性回避のため疎水性の低減を目的に右末のヒドロキシシクロヘキシル基の変換を行って(2*R*)-ヒドロキシプロピルアミノ基を有する40aを見出した。化合物40aのCYP2D6阻害作用の軽減を目指し、テトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入を検討した結果、テトラヒドロイソキノリンC8位へメトキシ基を導入した40pがCYP2D6阻害活性の顕著な減弱を示した ( $IC_{50} = 30.3 \mu M$ )。しかしながら40pは、置換基導入のために疎水性が増大し、CYP3A4阻害作用を呈した。そこで疎水性低減を図るため、テトラヒドロイソキノリンC1位のシクロヘキシル基をフェニル基に変換したところ、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用がなく、N型カルシウムチャネル阻害作用を有する化合物(1*S*)-45dを得ることに成功した。(1*S*)-45aとCYP2D6とのドッキング解析の結果より、テトラヒドロイソキノリンC8位にメトキシ基を導入した(1*S*)-45dは、メトキシ基とC1位のフェニル基との間に立体反発を生じテトラヒドロイソキノリンとC1位のフェニル基の二つの平面が成す二面角が変化したことでCYP2D6のポケットに収まらなくなり、阻害作用が無くなったものと考えられた。CYP阻害作用がなく、hERGおよびL型カルシウムチャネルへの阻害活性に対して十分な選択性を有する(1*S*)-45dは、神経障害性疼痛モデルにおいて経口投与にて $ED_{50} = 2.8 \text{ mg/kg}$ の良好な鎮痛効果を示した。

## 第五章 総括

N型カルシウムチャンネル阻害剤 ziconotide (8)の鎮痛薬としての薬効に注目し、ziconotide (8)の課題である感染性髄膜炎の懸念や中枢性副作用の問題を克服しうる新規な低分子経口N型カルシウムチャンネル阻害剤の創製を目指して研究を行った。その結果、筆者らは新規な低分子経口阻害剤としてテトラヒドロイソキノリン誘導体を見出した。中でも、2- $\{[(2R)-2\text{-ヒドロキシプロピル}]アミノ\}$ -1- $[(1S)-8\text{-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル}]$ エタノン (1S)-45d は、L型カルシウムチャンネル阻害作用、hERG 阻害作用および CYP 阻害作用といった副作用懸念がなく、神経障害性疼痛モデルにおいて経口投与にて良好な鎮痛効果を示した。第一章から第四章にかけて本研究を詳述してきたが、本章においてこれらを総括したい。

第一章では、緒論として本研究の背景となる、神経障害性疼痛の概説、痛み伝達とN型カルシウムチャンネル関係およびペプチド型選択的阻害薬 ziconotide (8)、低分子N型カルシウムチャンネル阻害薬創製の先行研究について述べた。

第二章では、アステラス社内化合物より新たに見出されたテトラヒドロイソキノリン骨格を有する強力なN型カルシウムチャンネル阻害剤22aの構造変換を行って、hERG阻害作用に対して約100倍の選択性を有する高質なリード化合物(1S)-(1-シクロヘキシル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル)-2- $\{[(1\text{-ヒドロキシシクロヘキシル})メチル]アミノ\}$ エタノン (S)-22cを得ることに成功した。(S)-22cは、代表的な神経障害性疼痛モデルであるSNLモデルにおいて経口投与にて3 mg/kgより効果を示した<sup>32</sup>。

第三章では、前章において見出したリード化合物22cのCYP2D6および3A4阻害作用の減弱を狙って構造最適化を行った。疎水性低減を目的にテトラヒドロイソキノリンC1位の構造最適化を行い、シクロヘキシル基からイソプロピル基への変換によってN型カルシウムチャンネル阻害作用を保持しつつCYP3A4阻害作用を低減することができた。さらに得られた32fのテトラヒドロイソキノリンのベンゼン環上への置換基導入について検討し、CYP2D6阻害作用が減弱した2- $\{[(1\text{-ヒドロキシシクロヘキシル})メチル]アミノ\}$ -(1R)-(1-イソプロピル-6-メトキシ-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1H)-イル)エタノン (R)-32rを見出した。(R)-32rはSNLモデルにおいて経口投与にてED<sub>50</sub> = 2.5 mg/kgの良好な鎮痛効果を示した<sup>43</sup>。

第四章では、再度リード化合物22cのCYP2D6および3A4阻害作用の減弱を狙って構造最適化を行った。第三章における検討より、テトラヒドロイソキノリンC1位にイソプロピル

ル基を残したままでCYP2D6阻害作用をさらに減弱させることは、困難であるように思われた。また、C1位にイソプロピル基よりも大きな置換基を導入し、C8位に導入した置換基との間に生じる立体的な反発によるコンフォメーション変化がCYP2D6阻害活性に対してどのように影響するかは未検討事項であり、CYP2D6阻害活性減弱の期待が残された。そこでテトラヒドロイソキノリンC1位にシクロヘキシル基を残して最適化を行った。まず、CYP3A4阻害活性回避のため疎水性の低減を目的に右末のヒドロキシシクロヘキシル基の変換を行い、(2*R*)-ヒドロキシプロピルアミノ基を有する40aを見出した。化合物40aのCYP2D6阻害作用の軽減を目指し、テトラヒドロイソキノリンのベンゼン環部分への置換基導入を検討した結果、C8位へメトキシ基を導入した40pが本研究における検討で初めてCYP2D6阻害活性の顕著な減弱を示した。しかしながら40pは、疎水性が増大したためにCYP3A4阻害作用を示した。そこで疎水性低減を図るため、C1位のシクロヘキシル基をフェニル基に変換したところ、CYP2D6およびCYP3A4阻害作用がなくN型カルシウムチャネル阻害作用を有する2- $\{[(2R)\text{-}2\text{-ヒドロキシプロピル}]アミノ\}$ -1- $[(1S)\text{-}8\text{-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル}]$ エタノン(1*S*)-45dを見出すことができた。(1*S*)-45dは、SNLモデルにおいて経口投与にてED<sub>50</sub> = 2.8 mg/kgの良好な鎮痛効果を示した<sup>47</sup>。

以上述べてきたように、筆者らは、ペプチド型 N 型カルシウムチャネル阻害薬である ziconotide (8)の鎮痛効果に注目し ziconotide (8)の有する課題の解決した新規神経障害性疼痛の創製を目指して研究を行って、様々な副作用リスクを低減させた新規 N 型カルシウムチャネル阻害薬 2- $\{[(2R)\text{-}2\text{-ヒドロキシプロピル}]アミノ\}$ -1- $[(1S)\text{-}8\text{-メトキシ-1-フェニル-3,4-ジヒドロイソキノリン-2(1*H*)-イル}]$ エタノン (1*S*)-45d を見出すことに成功した。

## 実験の部

### Chemistry

#### General

All reactions were carried out using commercially available reagents and solvents without further purification. Column chromatography was performed using a silica gel cartridge Shoko Scientific SI series on a Shoko Scientific Purif- $\alpha$ 2.  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded on a JNM-EX400 spectrometer. Chemical shifts are expressed in  $\delta$  units (ppm) using tetramethylsilane as an internal standard. Abbreviations used for the signal patterns are as follows: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; sep., septet; m, multiplet; and br, broad. Mass spectra were recorded on a JEOL LX-2000 or Waters ZQ-2000 mass spectrometer. Elemental analysis was conducted using a Yanaco MT-5 microanalyzer. HPLC analysis was performed using a Daicel OD-H chiral column on a Hitachi HPLC system (L-7000 series), equipped with a UV source (210 nm or 230 nm), utilizing hexane/ethanol/diethylamine as an eluent. Specific rotations were measured using a HORIBA SEPA-300 polarimeter.

### 第二章

#### 2-(Chloroacetyl)-1-cyclohexyl-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline (25a)

To a solution of 1-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24a) (14.63 g) in ethyl acetate (90 mL) and saturated aqueous sodium bicarbonate (85 mL) was added dropwise a solution of chloroacetyl chloride (5.95 mL) in ethyl acetate (10 mL) under 4 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The reaction mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was washed with cyclohexane to give the title compound **25a** (19.50 g, 98%) as a white solid.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  0.94–1.30 (5H, m), 1.51–1.92 (6H, m), 2.87–3.13 (2H, m), 3.33–3.43 (minor rotamer, 2H, m), 3.72–3.88 (2H, m), 4.05–4.19 (2H, m), 4.23 (minor rotamer 1H, d,  $J = 12.0$  Hz), 4.32 (minor rotamer, 2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 4.34–4.43 (minor rotamer, 1H, m), 5.27



(major rotamer, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 7.04–7.08 (minor rotamer, 1H, m), 7.09–7.23 (4H, m); FAB MS  $m/z$  292 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[[2-(2-methoxyphenyl)ethyl]amino]ethanone oxalate (22a)

To a solution of compound 25a (2.47 g) in chloroform (50 mL) was added *N,N*-diisopropylethylamine (3.77 mL) and [2-(2-methoxyphenyl)ethyl]amine (6.40 g) and the mixture was heated under reflux for 2 days. The reaction mixture was diluted with water, extracted with chloroform, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The resulting residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with chloroform–ethanol–aqueous ammonia to give a colorless oil (2.98 g). The oil was dissolved in ethyl acetate (20 mL) and ethanol (3 mL). Oxalic acid (660 mg) was then added to the solution. The precipitate was filtered off to obtain the title compound 22a as a colorless solid (3.37 g, 80%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  0.98–1.20 (5H, m), 1.46–1.77 (6H, m), 2.82–3.20 (5H, m), 3.28–3.40 (minor rotamer, 1H, m), 3.52–3.72 (major rotamer, 2H, m), 3.78 (3H, s), 3.94–4.14 (1H, m), 4.16–4.26 (1H, m), 4.30 (minor rotamer, 1H, d,  $J = 10.0$  Hz), 5.11 (major rotamer, 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 6.90 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 6.99 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz), 7.08–7.28 (6H, m); FAB MS  $m/z$  407 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 67.72; H, 7.31; N, 5.64. Found: C, 67.44; H, 7.35; N, 5.62.

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(cyclohexylmethyl)amino]ethanone fumarate (22b)

Compound 22b was synthesized using a protocol similar to that for compound 22a. Compound 22b was obtained in 54% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  0.79–1.27 (10H, m), 1.43–1.79 (12H, m), 2.44–2.60 (3H, m), 2.75–3.06 (2H, m), 3.22–3.35 (minor rotamer, 1H, m), 3.53–3.79 (3H, m), 3.84 (major rotamer, 1H, d,  $J = 18.4$  Hz), 4.15–4.28 (minor rotamer, 1H, m), 4.41 (minor rotamer, 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 5.12

(major rotamer, 1H, d,  $J = 10.4$  Hz), 6.51 (2H, s, fumaric acid), 7.01–7.32 (4H, m); FAB MS  $m/z$  369 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone oxalate (**22c**)

Compound **22c** was synthesized using a protocol similar to that for compound **22a**. Compound **22c** was obtained in 70% yield as a pale brown solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  0.92–1.80 (21H, m), 2.74–3.07 (5H, m), 3.31–3.41 (minor rotamer, 1H, m), 3.51–3.63 (major rotamer, 1H, m), 3.63–3.73 (major rotamer, 1H, m), 3.73–3.81 (minor rotamer, 1H, m), 3.92–4.04 (2H, m), 4.12 (1H, d,  $J = 1.6$ Hz), 4.15–4.26 (minor rotamer, 1H, m), 4.32 (minor rotamer, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 5.11 (major rotamer, 1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.08–7.28 (4H, m); FAB MS  $m/z$  385 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 65.80; H, 8.07; N, 5.90. Found: C, 65.45; H, 8.18; N, 5.85.

(1*S*)-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone oxalate ((*S*)-**22c**)

Compound (*S*)-**22c** was synthesized using a protocol similar to that for compound **22c**, except that (1*S*)-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline<sup>30</sup> was used as a starting material. Compound (*S*)-**22c** was obtained in 69% yield as a colorless solid.

HPLC (Chiralpak OD-H [0.46 cm I.D. × 15 cm], hexane: ethanol: diethylamine = 80/20/0.1 flow rate 0.5 ml/min., column temp.: 40 °C, UV: 210 nm): retention time:  $t_s = 8.34$  min (major),  $t_r = 9.73$  min (minor); 98.4% ee. FAB MS  $m/z$  385 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 65.80; H, 8.07; N, 5.90. Found: C, 65.75; H, 8.09; N, 5.90.  $[\alpha]^{26}_D +10.8^\circ$  (c = 0.1, MeOH).

**(1*R*)-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methylamino]ethanone oxalate ((*R*)-22c)**

Compound (*R*)-22c was synthesized using a protocol similar to that for compound 22c, except that (1*R*)-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline<sup>30</sup> was used as a starting material. Compound (*R*)-22c was obtained in 57% yield as a colorless solid.

HPLC (Chiralpak OD-H [0.46 cm I.D. × 15 cm], hexane: ethanol: diethylamine = 80/20/0.1 flow rate 0.5 ml/min., column temp.: 40 °C, UV: 210 nm): retention time: *tr* = 9.73 min (major), *ts* = 8.34 min (minor); 98.3% ee. FAB MS *m/z* 385 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 65.80; H, 8.07; N, 5.90. Found: C, 65.70; H, 8.11; N, 5.88. [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> -13.6° (c = 0.1, MeOH).

**1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclopentyl)methyl]amino]ethanone oxalate (22d)**

Compound 22d was synthesized using a protocol similar to that for compound 22a. Compound 22d was obtained in 78% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 0.96–1.26 (5H, m), 1.46–1.82 (14H, m), 2.80–3.10 (4H, m), 3.21–4.66 (6H, m), 5.11 (major rotamer 1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.14–7.23 (4H, m); FAB MS *m/z* 371 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[2-(1-hydroxycyclohexyl)ethyl]amino]ethanone oxalate (22f)**

Compound 22f was synthesized using a protocol similar to that for compound 22a. Compound 22f was obtained in 48% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 0.92–1.84 (25H, m), 2.74–3.11 (4H, m), 3.30–3.40 (major rotamer, 1H, m), 3.53–3.73 (major rotamer, 2H, m), 3.98–4.12 (1H, m), 4.14–4.26 (1H, m), 4.32 (minor rotamer, 1H, *J* = 9.4 Hz), 5.11 (major rotamer, 1H, d, *J* = 9.3 Hz), 7.08–7.23 (4H, m); FAB MS *m/z* 400 [M+2H]<sup>+</sup>.

2-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-oxoethanamine (27)

To a solution of [(*tert*-butoxycarbonyl)amino]acetic acid (1.54 g) and 4-methylmorpholine (2.2 mL) in methylene chloride (20 mL), was added pivaloyl chloride (0.98 mL) under 5 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and then 1-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24a) (1.00 g) was added to the reaction mixture at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 14 hours. The reaction mixture was diluted with water. The mixture was extracted with chloroform, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with chloroform–methanol to give *tert*-butyl [2-(1-cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-oxoethyl]carbamate (1.49 g 100%) as a colorless oil; ESI MS *m/z* 373 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution of *tert*-butyl[2-(1-cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-oxoethyl]carbamate (1.49 g) in ethyl acetate (20 mL) was added 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (3 mL) under 5 °C. The reaction mixture was stirred at 50 °C for 5 hours. Then, the reaction solvent was concentrated *in vacuo*. Saturated aqueous sodium bicarbonate was added to the residue and extracted with chloroform. The extract was washed with brine and dried over magnesium sulfate. It was concentrated *in vacuo* and the resulting residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with chloroform–methanol to give the title compound 27 (1.09 g, 99%) as a pale yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  0.92–1.29 (5H, m), 1.50–1.96 (6H, m), 2.23 (2H, brs), 2.82–3.12 (2H, m), 3.29–3.71 (4H, m), 4.42–4.51 (minor rotamer, 1H, m), 4.18 (minor rotamer, 1H, d, *J* = 12.0 Hz), 5.29 (major rotamer, 1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.00–7.05 (minor rotamer, 1H, m), 7.07–7.25 (4H, m); ESI MS *m/z* 273 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycycloheptyl)methyl]amino}ethanone oxalate (22e)

To a solution compound 27 (200 mg) in 2-propanol (2 mL) was added compound 28<sup>31</sup> (139 mg) and it was refluxed for 15 hours. The reaction solvent was concentrated

*in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with chloroform–methanol to afford a pale brown oil (89 mg). The oil was dissolved in 2-propanol (3 mL). Oxalic acid (22 mg) was added to the solution at 60 °C. The mixture was evaporated to give the title compound **22e** (72.2 mg, 20%) as a pale brown solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  1.05–1.73 (23H, m), 2.76–3.06 (4H, m), 3.08–3.92 (2H, m), 4.01 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 4.08–4.26 (1H, m), 4.30 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 5.11 (major rotamer 1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.16–7.23 (4H, m); FAB MS *m/z* 399 [M+H]<sup>+</sup>.

### 第三章

#### *N*-(2-Phenylethyl)tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxamide (**30b**)

To a solution of 2-phenylethylamine (2.91 mL) and tetrahydro-2*H*-pyran-4-carboxylic acid (3.0 g) in dichloromethane (30 mL) and *N,N*-dimethylformamide (15 mL) were added 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (4.42 g) and 1-hydroxybenzotriazole (3.11 g). The mixture was stirred at room temperature for 1 day. The reaction mixture was diluted with water, extracted with chloroform, washed with brine, and dried over magnesium sulfate. The resulting mixture was concentrated *in vacuo* to give compound **30b** (4.85 g, 90%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.11–7.39 (5H, m), 5.46 (1H, brs), 3.92–4.04 (1H, m), 3.53 (2H, q, *J* = 6.7 Hz), 3.37 (2H, dt, *J* = 6.7, 12.8 Hz), 2.82 (2H, t, *J* = 6.8 Hz), 2.26 (sep. *J* = 5.0 Hz), 1.61–1.83 (m, 4H); APCI MS *m/z* 234 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 2,2-Dimethyl-*N*-(2-phenylethyl)propanamide (**30g**)

To a solution of 2-phenylethylamine (17 mL) and potassium carbonate (37 g) in ethyl acetate (80 mL) and water (150 mL) was added dropwise a solution of 2,2-dimethylpropanoyl chloride (16.3 g) in ethyl acetate (70 mL) at 4 °C. After stirring at room temperature for 1.5 hours, the mixture was extracted with ethyl acetate, washed with 1 M aqueous hydrochloric acid, and dried over magnesium sulfate. The resulting mixture was concentrated *in vacuo* to give compound **30g** (24.6

g, 89%) as a pale yellow solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.50 (1H, brs), 7.24–7.31 (2H, m), 7.14–7.22 (3H, m), 3.20–3.29 (2H, m), 2.71 (2H, t,  $J$  = 7.1 Hz), 1.05 (9H, s); FAB MS  $m/z$  206 [M+H] $^+$ .

#### 2-Ethyl-*N*-(2-phenylethyl)butanamide (30h)

Compound 30h was synthesized in a manner similar to that for compound 30b. Compound 30h was obtained at a yield of 76% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ ):  $\delta$  7.27–7.36 (2H, m), 7.17–7.26 (3H, m), 5.42 (1H, brs), 3.56 (2H, q,  $J$  = 6.8 Hz), 2.83 (2H, t,  $J$  = 6.9 Hz), 1.71–1.81 (1H, m), 1.51–1.65 (2H, m), 1.37–1.49 (2H, m), 0.85 (6H, t,  $J$  = 7.4 Hz); ESI MS  $m/z$  220 [M+H] $^+$ .

#### 2-Methyl-*N*-[2-(2-methylphenyl)ethyl]propanamide (30k)

Compound 30k was synthesized in a manner similar to that for compound 30g. Compound 30k was obtained at a quantitative yield as a pale brown oil.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$ : 7.75–7.88 (1H, br), 7.05–7.17 (3H, m), 3.33 (3H, s), 3.20 (2H, q,  $J$  = 8.0 Hz), 2.69 (2H, t,  $J$  = 8.0 Hz), 2.22–2.37 (4H, m), 0.98 (6H, d,  $J$  = 4.0 Hz); EI MS  $m/z$  205 [M] $^+$ .

#### 3-Methyl-*N*-[2-(2-methylphenyl)ethyl]propanamide (30l)

Compound 30l was synthesized in a manner similar to that for compound 30g. Compound 30l was obtained at a yield of 90% as a pale yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ ):  $\delta$  7.20 (1H, t,  $J$  = 7.3 Hz), 6.95–7.08 (3H, m), 5.42 (1H, brs), 3.50 (2H, q,  $J$  = 6.8 Hz), 2.78 (2H, t,  $J$  = 6.8 Hz), 2.33 (3H, s), 2.28 (1H, sep.,  $J$  = 6.8 Hz), 1.12 (6H, d,  $J$  = 6.8 Hz); FAB MS  $m/z$  206 [M+H] $^+$ .

#### 4-Methyl-*N*-[2-(2-methylphenyl)ethyl]propanamide (30m)

Compound 30m was synthesized in a manner similar to that for compound 30g. Compound 30m was obtained at a yield of 60% as a pale yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ ):  $\delta$  7.05–7.15 (4H, m), 5.40 (1H, brs), 3.49 (2H, q,  $J$  = 6.8 Hz), 2.77 (2H, t,  $J$  = 6.8 Hz), 2.33 (3H, s), 2.27 (1H, sep.,  $J$  = 6.8 Hz) 1.11 (6H, d,  $J$  = 7.1 Hz); FAB MS  $m/z$  206

[M+H]<sup>+</sup>.

#### *N*-[2-(2-Bromo-5-methylphenyl)ethyl]-2-methylpropanamide (30n)

Compound 30n was synthesized in a manner similar to that for compound 30g using 29n<sup>48</sup> instead of 29b. Compound 30n was obtained 83% yield as a red solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.73–7.89 (1H, m), 7.43 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.09 (1H, brs), 6.92–7.01 (1H, m), 3.26 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 2.79 (2H, t, *J* = 7.1 Hz), 2.31 (1H, sep., *J* = 6.9 Hz), 2.23 (3H, s), 0.97 (6H, d, *J* = 6.9 Hz); CI MS *m/z* 284 [M]<sup>+</sup>.

#### 4-Fluoro-*N*-[2-(2-methylphenyl)ethyl]propanamide (30p)

Compound 30p was synthesized in a manner similar to that for compound 30g. Compound 30p was obtained at a yield of 99% as a pale yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.76 (1H, brs), 7.16–7.28 (2H, m), 7.04–7.14 (2H, m), 3.24 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 2.69 (2H, t, *J* = 7.1 Hz), 2.30 (1H, sep., *J* = 6.8 Hz), 0.96 (6H, d, *J* = 6.8 Hz); FAB MS *m/z* 210 [M+H]<sup>+</sup>.

#### *N*-[2-(2-Bromo-5-fluorophenyl)ethyl]-2-methylpropanamide (30q)

Compound 30q was synthesized in a manner similar to that for compound 30g using 29q<sup>48</sup> instead of 29b. Compound 30q was obtained 98% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.82 (1H, brs), 7.61 (1H, dd, *J* = 5.4, 8.8 Hz), 7.15 (1H, dd, *J* = 3.1, 9.8 Hz), 7.05 (1H, dt, *J* = 3.0, 8.4 Hz), 3.31 (2H, q, *J* = 6.8 Hz), 2.83 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.30 (1H, sep., *J* = 6.8 Hz), 0.96 (6H, d, *J* = 6.8 Hz); FAB MS *m/z* 288 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-(Tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (31b)

Compound 30b (3.0 g) was combined with polyphosphate ester (15 mL) and stirred at 120 °C for 2 hours. The reaction mixture was diluted with water, basified with ammonia, extracted with ethyl acetate, washed with water and brine, and dried over magnesium sulfate. The resulting mixture was concentrated *in vacuo* to obtain 1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-3,4-dihydroisoquinoline (2.61 g, 94%), which was used in the next step without further purification. APCI MS *m/z* 216 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution

of 1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-3,4-dihydroisoquinoline (2.61 g) in methanol (15 mL) was added sodium borohydride (458 mg) at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The reaction was quenched by the addition of water, extracted with ethyl acetate, washed with water and brine, and dried over magnesium sulfate. The resulting mixture was concentrated *in vacuo* to give compound 31b (1.61 g, 61%) as a brown solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.03–7.36 (4H, m), 3.82–4.19 (2H, m), 3.18–3.58 (2H, m), 2.56–3.07 (2H, m), 1.39–1.85 (3H, m), 1.26–1.38 (1H, m); APCI MS *m/z* 218 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-*tert*-Butyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31g)

To a solution of compound 30g (10.0 g) in toluene (100 mL) was added phosphorus pentoxide (13.83 g) and stirred at 70 °C. Phosphoryl chloride (7 mL) was then added to the mixture, warmed to 120 °C and stirred for 8 hours. After cooling to room temperature, the supernatant was removed. 20% aqueous sodium hydroxide was added to the residue, extracted with ethyl acetate, washed with brine, and dried over magnesium sulfate. The mixture was concentrated *in vacuo* to obtain 1-*tert*-butyl-3,4-dihydroisoquinoline (4.9 g, 53%), which was used in the next step without further purification. EI MS: *m/z*: 186 [M-H]<sup>+</sup>. To a solution of 1-*tert*-butyl-3,4-dihydroisoquinoline (4.83 g) in ethanol (40 mL) and toluene (5 mL) was added sodium borohydride (1.10 g) at 4 °C. After stirring at room temperature for 1 hour, 1 M aqueous hydrochloric acid (20 mL) was added to the mixture and stirred at room temperature for 30 minutes. The resulting mixture was basified with 1 M aqueous sodium hydroxide (40 mL), extracted with ethyl acetate, dried over magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate (20 mL) and ether (60 mL) and 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (7 mL) was then added to the mixture. The precipitate was filtered off to give compound 31g (5.82 g, 23%) as a pale yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.5 (1H, brs), 8.26 (1H, brs), 7.23–7.32 (4H, m), 4.31 (1H, brs), 3.48–3.56 (1H, m), 2.69–2.91 (3H, m), 1.00 (9H, s); ESI MS *m/z* 190 [M+H]<sup>+</sup>.



### 1-(Pentan-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31h)

Compound 31h was synthesized in a manner similar to that for compound 31g. Compound 31h was obtained at a yield of 80% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.66 (1H, brs), 8.42 (1H, brs), 7.18–7.34 (4H, m), 4.61 (1H, brs), 3.36–3.46 (1H, m) 3.03–3.25 (2H, m), 2.85–2.96 (1H, m), 1.95 (1H, brs), 1.22–1.60 (3H, m), 1.07–1.19 (1H, m), 1.00 (3H, t, *J* = 7.6 Hz), 0.80 (3H, t, *J* = 7.5 Hz); ESI MS *m/z* 204 [M+H]<sup>+</sup>.

### 1-Isopropyl-5-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31k)

To a solution of compound 30k (7.64 g) in dichloromethane (50 mL) was added oxalyl chloride (5.0 mL) at 4 °C. After stirring at room temperature for 1.5 hours, ferric chloride (6.7 g) was added to the mixture at 4 °C. The mixture was then stirred at room temperature for 4.5 hours. The reaction was quenched by the addition of 1 M aqueous hydrochloric acid, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was washed with ether, and the precipitate was filtered off to obtain 10*b*-isopropyl-7-methyl-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (5.25 g, 55%) as a colorless solid. FAB MS *m/z* 260 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution of concentrated sulfuric acid (3.0 mL) in methanol (30 mL) was added 10*b*-isopropyl-7-methyl-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (5.22 g) and the mixture was heated under reflux for 4 days. The mixture was concentrated *in vacuo*, diluted with water and washed with ether. The aqueous phase was neutralized with aqueous ammonia, extracted with toluene, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain 1-isopropyl-5-methyl-3,4-dihydroisoquinoline (3.66 g, 97%) as a brown oil. FAB MS *m/z* 188 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution of 1-isopropyl-5-methyl-3,4-dihydroisoquinoline (3.61 g) in ethanol (40 mL) and toluene (10 mL) was added sodium borohydride (0.80 g) at 4 °C. After stirring at room temperature for 14 hours, the reaction was quenched by the addition of 1 M aqueous hydrochloric acid. The mixture was basified with 1 M aqueous sodium hydroxide, extracted with toluene, and dried over magnesium

sulfate. 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (6 mL) was added to the mixture. The precipitate was filtered off to give compound **31k** (4.19 g, 96%) as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.85 (1H, brs), 8.77 (1H, brs), 7.02–7.26 (3H, m), 4.36–4.45 (1H, m), 3.39–3.63 (1H, m), 3.08–3.21 (1H, m), 2.78–2.98 (2H, m), 2.34–2.55 (1H, m), 2.22 (3H, s), 1.09 (3H, d,  $J$  = 7.1 Hz), 0.84 (3H, d,  $J$  = 6.9 Hz); FAB MS  $m/z$  190  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### **1-Isopropyl-6-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31l)**

Compound **31l** was synthesized in a manner similar to that for compound **31g**. Compound **31l** was obtained at a yield of 88% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.85 (1H, brs), 8.72 (1H, brs), 7.17 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 7.08 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 7.03 (1H, s), 4.37 (1H, brs), 3.38–3.47 (1H, m), 2.98–3.16 (2H, m), 2.80–2.91 (1H, m), 2.40–2.48 (1H, m), 2.27 (3H, s), 1.09 (3H, d,  $J$  = 6.9 Hz), 0.84 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz); CI MS  $m/z$  190  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### **1-Isopropyl-7-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31m)**

Compound **31m** was synthesized in a manner similar to that for compound **31g**. Compound **31m** was obtained at a yield of 74% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.89 (1H, brs), 8.72 (1H, brs), 6.82–7.26 (3H, m), 4.38 (1H, brs), 3.38–3.46 (1H, m), 2.97–3.14 (2H, m), 2.79–2.90 (1H, m), 2.41–2.52 (1H, m), 2.28 (3H, s), 1.10 (3H, d,  $J$  = 7.1 Hz), 0.84 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz); CI MS  $m/z$  190  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### **5-Bromo-1-isopropyl-8-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (31n)**

Compound **31n** was synthesized in a manner similar to that for compound **31g**. Compound **31n** was obtained at a yield of 8% as a brown oil.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.32 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 6.87 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 4.00 (1H, d,  $J$  = 5.9 Hz), 3.26–3.39 (1H, m), 2.83–3.01 (2H, m), 2.56–2.69 (1H, m), 2.15–2.37 (4H, m), 2.02–2.13 (1H, m), 0.98 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz), 0.83 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz); CI MS  $m/z$  268  $[\text{M}]^+$ .

#### **7-Fluoro-1-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (31p)**

Compound **31p** was synthesized in a manner similar to that for compound **31g**.

Compound **31p** was obtained at a yield of 12% as a pale yellow solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.07 (1H, brs), 8.90 (1H, brs), 7.25–7.34 (1H, m), 7.07–7.24 (1H, m), 4.46 (1H, brs), 3.43 (1H, brs), 2.82–3.15 (4H, m), 1.12 (3H, d,  $J$  = 7.1 Hz), 0.83 (3H, d,  $J$  = 7.1 Hz); FAB MS  $m/z$  194  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 5-Bromo-8-fluoro-1-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (**31q**)

Compound **31q** was synthesized in a manner similar to that for compound **31k**. Compound **31q** was obtained at a yield of 7% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9.95 (1H, brs), 9.09 (1H, brs), 7.71 (1H, dd,  $J$  = 5.1, 8.8 Hz), 7.20 (1H, t,  $J$  = 9.3 Hz), 4.52 (1H, d,  $J$  = 6.9 Hz), 3.39–3.51 (1H, m), 3.22–3.38 (1H, m), 2.89–2.06 (2H, m), 2.19–2.35 (1H, m), 1.00 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz), 0.94 (3H, dd,  $J$  = 2.5, 6.8 Hz); ESI MS  $m/z$  272  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 1-(3,4-Dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone oxalate (**32a**)

To a solution of **31a** (2.0 g) in toluene (10 mL) and water (10 mL) was added potassium carbonate (3.2 g) and chloroacetyl chloride (1.4 mL) at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 23 hours and then diluted with water, extracted with ethyl acetate, washed with 1 M aqueous hydrochloric acid and brine, dried over magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo* to give 2-chloro-1-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (2.7 g, 86%) as a pale yellow solid. EI MS  $m/z$  209  $[\text{M}]^+$ . To a solution of 2-chloro-1-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (0.35 g) in acetonitrile (5 mL) were added 1-(aminomethyl)cyclohexanol hydrochloride (0.7 g) and potassium carbonate (0.7 g). The mixture was stirred at 70 °C for 3 days and then diluted with water, extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with chloroform–methanol, and dissolved in 2-propanol (4 mL). A solution of oxalic acid (54 mg) in ether (10 mL) was added to the solution. The precipitate was filtered off to obtain compound **32a** (194 mg, 30%) as a colorless solid.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.62 (1H, brs), 7.13–7.27 (4H, m), 4.66 (1H, s), 4.60 (1H, s), 4.03–4.14 (2H, m), 3.73 (1H, t,  $J$  = 6.1 Hz), 3.60 (1H, t,  $J$  = 6.0 Hz), 2.86–2.95 (3H, m), 2.81 (1H, t,  $J$  = 6.0 Hz), 1.18–1.64 (11H, m); FAB MS  $m/z$  303  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2- $\{[(1\text{-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino\}$ -1-[1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate (32b)

Compound **32b** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32b** was obtained at a yield of 44% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.12–7.27 (4H, m), 5.14 (major rotamer 1H, t,  $J$  = 9.7 Hz), 4.39 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.8 Hz), 4.21–4.30 (1H, m), 4.14 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 16.2 Hz), 3.30–4.07 (7H, m), 3.07–3.28 (2H, m), 2.82–3.03 (4H, m), 1.80–2.00 (1H, m), 1.19–1.65 (15H, m); FAB MS  $m/z$  387  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2- $\{[(1\text{-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino\}$ -1-(1-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32e)

Compound **32e** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32e** was obtained at a yield of 8% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.11–7.29 (4H, m), 5.46 (major rotamer 1H, q,  $J$  = 6.8 Hz), 4.96 (minor rotamer 1H, q,  $J$  = 6.7 Hz), 4.38–4.47 (minor rotamer 1H, m), 3.97–4.27 (2H, m), 3.62–3.73 (major rotamer 1H, m), 3.44–3.55 (major rotamer 1H, m), 3.10–3.21 (minor rotamer 1H, m), 2.69–3.01 (4H, m), 1.18–1.65 (13H, m); FAB MS  $m/z$  317  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2- $\{[(1\text{-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino\}$ -1-(1-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32f)

Compound **32f** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32f** was obtained at a yield of 20% as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.12–7.27 (4H, m), 5.09 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.3 Hz), 4.31 (minor rotamer 1H, d,  $J$  =

9.4 Hz), 4.18–4.27 (minor rotamer 1H, m), 4.12 (major rotamer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.94–4.04 (1H, m), 3.64–3.74 (major rotamer 1H, m), 3.53–3.63 (major rotamer 1H, m), 3.32–3.42 (minor rotamer 1H, m), 2.80–3.02 (4H, m), 1.92–2.10 (1H, m), 1.17–1.65 (10H, m), 0.78–1.02 (6H, m); FAB MS  $m/z$  345 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 63.57; H, 7.89; N, 6.45. Found: C, 63.44; H, 7.92; N, 6.49.

1-(1-*tert*-Butyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[[1-(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino]ethanone oxalate (32g)

Compound 32g was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32g was obtained at a yield of 20% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.12–7.31 (4H, m), 5.33 (major rotamer 1H, s), 4.48–4.59 (minor rotamer 1H, m), 4.46 (minor rotamer 1H, s), 4.08 (2H, q,  $J = 11.7$  Hz), 3.62–3.43 (2H, m), 3.30–3.43 (minor rotamer 1H, m), 2.76–3.08 (4H, m), 1.19–1.66 (11H, m), 0.98 (9H, s), 0.94 (9H, s); FAB MS  $m/z$  359 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-[1-(pentan-3-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate (32h)

Compound 32h was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32h was obtained at a yield of 50% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.13–7.31 (4H, m), 5.32 (major rotamer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.43 (minor rotamer 1H, d,  $J = 9.9$  Hz), 3.84–4.19 (2H, m), 3.55–3.72 (2H, m), 3.38 (minor rotamer 1H, q,  $J = 6.9$  Hz), 2.78–3.05 (4H, m), 1.13–1.77 (14H, m), 0.72–0.93 (6H, m); FAB MS  $m/z$  373 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclopentyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[[1-(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino]ethanone oxalate (32i)

Compound 32i was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32i was obtained at a yield of 58% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.63

(1H, brs), 7.09–7.26 (9H, m), 5.24 (major rotamer 1H, d,  $J = 10.1$  Hz), 4.49 (minor rotamer 1H, d,  $J = 9.8$  Hz), 4.14 (major rotamer 1H, d,  $J = 10.1$  Hz), 3.95–4.08 (1H, m), 3.55–3.74 (major rotamer 2H, m), 3.27–3.40 (minor rotamer 1H, m), 2.78–3.05 (4H, m), 2.07–2.31 (1H, m), 1.15–1.79 (19H, m); FAB MS  $m/z$  371 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-[(1*S*)-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate ((*S*)-32j)

Compound (*S*)-32j was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound (*S*)-32j was obtained at a yield of 36% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.14–7.42 (9H, m), 6.66 (major rotamer 1H, s), 6.16 (minor rotamer 1H, s), 4.34 (minor rotamer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 4.19 (major rotamer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.99–4.13 (1H, m), 3.84 (minor rotamer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.41–3.70 (2H, m), 2.73–3.08 (5H, m), 1.18–1.65 (11H, m); ESI MS  $m/z$  379 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. Calcd for C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 66.65; H, 6.88; N, 5.98. Found: C, 66.63; H, 6.88; N, 5.94.  $[\alpha]^{26}_D +129.6^\circ$  ( $c = 0.1$ , MeOH).

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-(1-isopropyl-5-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32k)

Compound 32k was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32k was obtained at a yield of 68% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.03–7.12 (3H, m), 5.06 (major rotamer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.37–4.47 (minor rotamer 1H, m), 4.27 (minor rotamer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.16 (major rotamer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.91–4.08 (1H, m), 3.58–3.75 (2H, m), 3.25–3.36 (minor rotamer 1H, m), 2.83–2.98 (1H, m), 2.72–2.82 (3H, m), 2.21 (major rotamer 3H, s), 2.19 (minor rotamer 3H, s), 1.92–2.11 (1H, m), 1.16–1.67 (10H, m), 0.82–1.01 (6H, m); FAB MS  $m/z$  359 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-(1-isopropyl-6-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32l)

Compound 32l was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32l was obtained at a yield of 66% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  6.95–7.11 (3H, m), 5.04 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.2 Hz), 4.26 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.6 Hz), 4.17–4.24 (minor rotamer 1H, m), 4.14 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 16.2 Hz), 3.95–4.05 (1H, m), 3.51–3.71 (2H, m), 3.29–3.38 (minor rotamer 1H, m), 2.77–2.98 (4H, m), 2.26 (3H, s), 1.88–2.08 (1H, m), 1.15–1.68 (10H, m), 0.82–1.00 (6H, m); FAB MS  $m/z$  359 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-(1-isopropyl-7-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32m)

Compound 32m was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32m was obtained at a yield of 44% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  6.97–7.12 (3H, m), 5.04 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.2 Hz), 4.25 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.5 Hz), 4.15–4.22 (minor rotamer 1H, m), 4.11 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 16.2 Hz), 3.92–4.07 (1H, m), 3.50–3.71 (major rotamer 2H, m), 3.29–3.40 (minor rotamer 1H, m), 2.77–2.97 (4H, m), 2.27 (major rotamer 3H, s), 2.28 (minor rotamer 3H, s), 1.90–2.12 (1H, m), 1.18–1.65 (10H, m), 0.83–0.99 (6H, m); FAB MS  $m/z$  359 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(6-Fluoro-1-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[[1-(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino]ethanone oxalate (32o)

Compound 32o was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32o was obtained at a yield of 62% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.25 (1H, dd,  $J$  = 5.9, 8.5 Hz), 6.98–7.12 (2H, m), 5.11 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.3 Hz), 4.36 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.4 Hz), 4.18–4.26 (minor rotamer 1H, m), 4.13 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 16.3 Hz), 3.97–4.06 (1H, m), 3.55–3.71 (2H, m), 3.29–3.38 (minor

rotamer 1H, m), 2.83–3.02 (4H, m), 1.90–2.09 (1H, m), 1.16–1.64 (10H, m), 0.80–0.98 (6H, m); FAB MS  $m/z$  363 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(7-Fluoro-1-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone oxalate (32p)**

Compound **32p** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32p** was obtained at a yield of 53% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.02–7.36 (3H, m), 5.14 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.2 Hz), 4.38 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.4 Hz), 4.09–4.26 (1H, m), 3.96–4.05 (1H, m), 3.54–3.71 (major rotamer 2H, m), 3.30–3.44 (minor rotamer 1H, m), 2.80–3.00 (4H, m), 1.94–2.12 (1H, m), 1.18–1.63 (10H, m), 0.81–0.99 (6H, m); FAB MS  $m/z$  363 [M+H]<sup>+</sup>.

**2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino}-1-(1-isopropyl-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32r)**

Compound **32r** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32r** was obtained at a yield of 60% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.07–7.15 (1H, m), 6.71–6.83 (2H, m), 5.03 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.3 Hz), 4.54 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.7 Hz), 4.08–4.22 (1H, m), 3.95–4.05 (1H, m), 3.73 (3H, s), 3.51–3.70 (major rotamer 2H, m), 3.29–3.38 (minor rotamer 1H, m), 2.82–2.98 (4H, m), 1.88–2.04 (1H, m), 1.19–1.63 (10H, m), 0.83–0.97 (6H, m); FAB MS  $m/z$  375 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 62.05; H, 7.81; N, 6.03. Found: C, 61.96; H, 7.91; N, 6.05.

**2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino}-(1*R*)-(1-isopropyl-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate ((*R*)-32r)**

Compound (*R*)-**32r** was synthesized in a manner similar to that for compound **32r**, except that (*R*)-**31r** was used instead of **31r**. Compound (*R*)-**32r** was obtained at a yield of 64% as a colorless solid. HPLC (Chiralpak OD-H [0.46 cm I.D. × 15 cm],



hexane: ethanol: diethylamine = 90/10/0.1 flow rate 0.5 mL/min., column temp.: 40 °C UV: 230 nm): retention time:  $t_s$  = 14.96 min (major),  $t_r$  = 11.76 min (minor); 98.4% ee. FAB MS  $m/z$  375 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 62.05; H, 7.81; N, 6.03. Found: C, 61.80; H, 7.83; N, 5.96.  $[\alpha]^{26}_D$  +31.8°(c = 0.1, MeOH).

(*R*)-**32r** was prepared via the following procedure: To a solution of **31r** (12.7 g) in 2-propanol (150 mL) was added (*2S*)-mandelic acid (9.20 g) and a small portion of the seed crystal. After stirring for 30 minutes, the precipitate was filtered off to obtain rough crystal (75% ee). Further recrystallization using 2-propanol (150 mL) was repeated three times to furnish enantiomerically pure (*1S*)-isopropyl-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (*2S*)-mandelate (6.11 g, 28%, >98% ee) as a colorless solid. HPLC (Chiralpak AD-RH [0.46 cm I.D. × 15 cm], acetonitrile: 20 mM borate buffer (pH 9.0) = 40/60 flow rate 0.5 mL/min., column temp.: 40 °C UV: 210 nm): retention time:  $t_s$  = 18.31 min (major),  $t_r$  = 14.30 min (minor); >98% ee. FAB MS  $m/z$  206 [M+H]<sup>+</sup>.

**2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methylamino]-(1*S*)-(1-isopropyl-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate ((*S*)-**32r**)**

Compound (*S*)-**32r** was synthesized in a manner similar to that for compound **32r**, except that (*S*)-**31r** was used instead of **31r**. Compound (*S*)-**32r** was obtained at a yield of 70% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.04–7.14 (1H, m), 6.72–6.82 (2H, m), 5.03 (major rotamer 1H, d,  $J$  = 9.3 Hz), 4.25 (minor rotamer 1H, d,  $J$  = 9.4 Hz), 4.06–4.23 (1H, m), 3.93–4.05 (1H, m), 3.73 (3H, s), 3.51–3.70 (major rotamer 2H, m), 3.28–3.38 (minor rotamer 1H, m), 2.79–3.00 (4H, m), 1.88–2.07 (1H, m), 1.18–1.65 (10H, m), 0.82–1.07 (6H, m); HPLC (Chiralpak OD-H [0.46 cm I.D. × 25 cm], hexane: ethanol: diethylamine = 90/10/0.1 flow rate 0.5 mL/min., column temp.: 40 °C UV: 230 nm): retention time:  $t_s$  = 11.76 min (major),  $t_r$  = 14.96 min (minor). FAB MS  $m/z$  375 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 62.05; H, 7.81; N, 6.03. Found: C, 61.83; H, 7.86; N, 6.00.  $[\alpha]^{23}_D$  -24.3°(c = 0.1, MeOH). (*S*)-**31r** was prepared in a manner similar to that for (*R*)-**31r**, except that (*2R*)-mandelic acid was used instead

of (2*S*)-mandelic acid. Compound (*S*)-**31r** was obtained at a yield of 29% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.37 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.24–7.28 (2H, m), 7.17–7.21 (1H, m), 7.13 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 6.78 (1H, dd, *J* = 2.8, 8.7 Hz), 6.71 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 4.70 (1H, s), 4.08 (1H, d, *J* = 4.1 Hz), 3.72 (3H, s), 3.24–3.30 (1H, m), 2.83–2.97 (2H, m), 2.68–2.75 (1H, m), 2.26–2.34 (1H, m), 1.00 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 0.72 (3H, d, *J* = 6.9 Hz); HPLC (Chiralpak AD-RH [0.46 cm I.D. × 15 cm], acetonitrile: 20 mM borate buffer (pH 9.0) = 40/60 flow rate 0.5 mL/min., column temp.: 40 °C UV: 210 nm): retention time: *t*<sub>s</sub> = 14.30 min (major), *t*<sub>r</sub> = 18.31 min (minor); >99% ee. ESI MS *m/z* 206 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methylamino]-1-(1-isopropyl-7-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (**32s**)

Compound **32s** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32s** was obtained at a yield of 62% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 7.06–7.16 (1H, m), 6.74–6.86 (2H, m), 5.08 (major rotamer 1H, d, *J* = 9.2 Hz), 4.30 (minor rotamer 1H, d, *J* = 9.4 Hz), 4.07–4.22 (1H, m), 3.93–4.03 (1H, m), 3.74 (major rotamer 3H, s), 3.73 (minor rotamer 3H, s), 3.61–3.70 (major rotamer 1H, m), 3.51–3.60 (major rotamer 1H, m), 3.29–3.12 (minor rotamer 1H, m), 2.79–2.94 (4H, m), 1.92–2.06 (1H, m), 1.19–1.63 (10H, m), 0.83–0.98 (6H, m); FAB MS *m/z* 375 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methylamino]-1-(1-isopropyl-8-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (**32t**)

Compound **32t** was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. Compound **32t** was obtained at a yield of 56% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 7.16–7.24 (1H, m), 6.78–6.92 (2H, m), 5.58 (major rotamer 1H, d, *J* = 9.8 Hz), 4.30 (minor rotamer 1H, d, *J* = 9.6 Hz), 4.00–4.17 (1H, m), 3.95 (major rotamer 1H, d, *J* = 16.3 Hz), 3.85 (minor rotamer 1H, d, *J* = 16.1 Hz), 3.81 (minor rotamer 3H, s), 3.78 (major rotamer 3H, s), 3.68–3.79 (1H, m), 3.36–3.52 (1H, m), 2.98–3.13 (1H, m), 2.80–2.96

(3H, m), 2.05–2.18 (minor rotamer 1H, m), 1.90–2.03 (1H, m), 1.17–1.65 (10H, m), 0.98 (minor rotamer 3H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.93 (major rotamer 3H, d,  $J = 6.8$  Hz), 0.81 (minor rotamer 3H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.78 (major rotamer 1H, d,  $J = 6.6$  Hz); FAB MS  $m/z$  375  $[M+H]^+$ .

**2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino-1-(1-isopropyl-8-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone oxalate (32n)**

1-(5-Bromo-1-isopropyl-8-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. 1-(5-Bromo-1-isopropyl-8-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone was obtained at a yield of 63% as a brown oil. FAB MS  $m/z$  437  $[M]^+$ . To a mixture of 1-(5-Bromo-1-isopropyl-8-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]amino}ethanone (116 mg) and triethylamine (0.05 mL) in ethanol (10 mL) was added 10% palladium on charcoal (10 mg) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 6 hours. After the mixture was filtered through a celite pad, the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved with chloroform, washed with 1 M aqueous sodium hydroxide, dried over magnesium sulfate, and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with chloroform-methanol to give a pale yellow oil (85 mg). The oil was dissolved in 2-propanol (0.8 mL). Oxalic acid (23 mg) and ether (5 mL) were added to the solution. The precipitate was filtered off to obtain compound 32n (66 mg, 56%) as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  6.99–7.20 (3H, m), 5.46 (major rotamer 1H, d,  $J = 10.4$  Hz), 4.41 (minor rotamer 1H, d,  $J = 10.2$  Hz), 4.19 (minor rotamer 1H, d,  $J = 15.8$  Hz), 4.05 (major rotamer 1H, d,  $J = 16.5$  Hz), 3.90–4.00 (1H, m), 3.81 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 3.48–3.59 (minor rotamer 1H, m), 3.32–3.43 (1H, m), 3.10–3.23 (1H, m), 2.82–2.97 (3H, m), 2.36 (minor rotamer 3H, s), 2.29 (major rotamer 3H, s), 1.94–2.07 (1H, m), 1.20–1.64 (10H, m), 1.03 (minor rotamer 3H, d,  $J = 6.7$  Hz), 0.99 (major rotamer 3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.74–0.84 (3H, m); ESI MS  $m/z$  359

[M+H]<sup>+</sup>.

**1-(8-Fluoro-1-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-((1-hydroxycyclohexyl)methylamino)ethanone oxalate (32q)**

Compound **32q** was synthesized in a manner similar to that for compound **32n**. Compound **32q** was obtained at a yield of 45% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.26–7.32 (1H, m), 7.04–7.14 (2H, m), 5.44 (major rotamer 1H, d, *J* = 9.9 Hz), 4.49 (minor rotamer 1H, d, *J* = 10.0 Hz), 4.14–4.23 (minor rotamer 1H, m), 4.09 (1H, d, *J* = 16.3 Hz), 3.97 (1H, d, *J* = 16.4 Hz), 3.34–3.92 (2H, m), 2.78–3.16 (4H, m), 1.95–2.18 (1H, m), 1.18–1.63 (10H, m), 0.99 (minor rotamer 3H, d, *J* = 6.8 Hz), 0.96 (major rotamer 3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.88 (minor rotamer 3H, dd, *J* = 3.1, 6.6 Hz), 0.84 (major rotamer 3H, dd, *J* = 2.9, 6.7 Hz); ESI MS *m/z* 363 [M+H]<sup>+</sup>.

**2-(2-Benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-yl)propan-2-ol (34)**

To a mixture of compound **33** (as a hydrochloride salt 4.98 g) and benzaldehyde (2.72 g) in acetic acid (50 mL) was added sodium triacetoxyborohydride (6.11 g) at 4 °C. After stirring at room temperature for 15 hours, the mixture was basified with 1 M aqueous sodium hydroxide solution, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane-ethyl acetate to obtain 2-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylate (1.99 g, 33%) as a colorless oil. ESI MS *m/z* 297 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution of 2-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylate (1.99 g) in tetrahydrofuran (20 mL) was added a solution of 1.04 M methyl lithium in hexane (16.2 mL) at –78 °C under an argon atmosphere. After stirring at –78 °C for 30 minutes, the mixture was warmed to 0 °C and stirred for 1 hour. The mixture was then cooled back to –78 °C, and a solution of 1.04 M methyl lithium in hexane (3.24 mL) was added to the mixture. After stirring at –78 °C for a further 30 minutes, the mixture was warmed to 0 °C and stirred for 1 hour. The reaction was then quenched by the addition of water, extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over

magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane-ethyl acetate to obtain compound **34** (1.27 g, 67%) as a pale yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.24–7.39 (5H, m), 7.11–7.23 (4H, m), 4.36 (1H, brs), 3.98 (1H, d, *J* = 13.2 Hz), 3.76 (1H, d, *J* = 13.2 Hz), 3.68 (1H, s), 3.26–3.35 (1H, m), 2.77–2.87 (1H, m), 2.66–2.75 (1H, m), 2.57–2.65 (1H, m), 1.37 (3H, s), 0.97 (3H, s); ESI MS *m/z* 283 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-(2-Methoxypropan-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (**31c**)

To a suspension of sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 199 mg) in tetrahydrofuran (5 mL) was added dropwise a solution of **34** (1.27 g) in THF (7 mL) at 4 °C and stirred at room temperature for 30 minutes. Methyl iodide (0.42 mL) was then added to the mixture at 4 °C. After stirring at room temperature for 8 hours, additional sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 199 mg) and methyl iodide (0.42 mL) were added to the mixture, followed by stirring at room temperature for 12 hours. The reaction was quenched by the addition of water, extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over magnesium sulfate, and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane-ethyl acetate to obtain 2-benzyl-1-(2-methoxypropan-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1.17 g, 88%) as a pale brown oil. ESI MS *m/z*: 296 [M+H]<sup>+</sup>. To a mixture of 2-benzyl-1-(2-methoxypropan-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1.17 g) and in methanol (12 mL) was added 10% palladium on charcoal (300 mg) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 8 hours. The mixture was filtered through a celite pad, and the filtrate was concentrated *in vacuo* to obtain compound **31c** (770 mg, 95%) as a yellow gum. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.39–7.48 (1H, m), 7.03–7.20 (3H, m), 4.23 (1H, s), 3.25–3.38 (4H, m), 2.80–2.92 (2H, m), 2.61–2.70 (1H, m), 1.16 (3H, s), 1.12 (3H, s); ESI MS *m/z* 206 [M+H]<sup>+</sup>.

2-[[1-(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]amino]-1-[1-(2-methoxypropan-2-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate (32c)

Compound 32c was synthesized in a manner similar to that for compound 32a. Compound 32c was obtained at a yield of 69% as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.29 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.11–7.24 (3H, m), 5.44 (major rotamer 1H, s), 4.63 (minor rotamer 1H, s), 4.28–4.38 (minor rotamer 1H, m), 4.15 (1H, d, *J* = 16.2 Hz), 3.98–4.10 (1H, m), 3.89–3.78 (1H, m), 3.60–3.70 (1H, m), 3.50–3.59 (1H, m), 3.07 (minor rotamer 3H, s), 3.04 (major rotamer 3H, s), 2.78–3.02 (4H, m), 1.30–1.64 (9H, m), 1.25 (major rotamer 3H, s), 1.21 (minor rotamer 3H, s), 1.17 (minor rotamer 3H, s), 1.12 (major rotamer 3H, s); FAB MS *m/z* 375 [M+H]<sup>+</sup>.

2-(1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolin-1-yl)propan-2-yl pivalate (36)

To a mixture of compound 35 (3.0 g) and tetramethylethylenediamine (2.2 mL) in tetrahydrofuran (40 mL) was added to a solution of 1.64 M *tert*-butyllithium in *n*-pentane (12 mL) at –78 °C under an argon atmosphere. After stirring at –78 °C for 10 minutes, acetone (1.8 mL) was added to the mixture and stirred at –78 °C for 1 hour. The reaction was quenched by the addition of acetic acid (2 mL), warmed to room temperature, and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved with ethyl acetate and washed with water, aqueous 5% citric acid solution, saturated aqueous sodium bicarbonate, and brine. The resulting mixture was dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane-ethyl acetate to give 1-[1-(2-hydroxypropan-2-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]-2,2-dimethylpropan-1-one (3.45 g, 68%) as a colorless solid. FAB MS *m/z*: 276 [M+H]<sup>+</sup>.

Trifluoroacetic acid (2.9 mL) was combined with 1-[1-(2-hydroxypropan-2-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]-2,2-dimethylpropan-1-one (300 mg) and stirred at room temperature for 4 hours. The mixture was concentrated *in vacuo*, basified with saturated aqueous sodium bicarbonate, extracted with ethyl acetate, washed with water, and dried over magnesium sulfate. The resulting solution was concentrated *in*

*vacuo* to obtain compound **36** (294 mg, 98%) as a yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.34 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz), 7.06–7.20 (3H, m), 4.60 (1H, brs), 3.25–3.35 (1H, m), 2.83–2.99 (2H, m), 2.63–2.74 (1H, m), 1.53 (3H, s), 1.45 (3H, s), 1.15 (9H, brs); FAB MS  $m/z$  276  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2-[(1-Hydroxycyclohexyl)methylamino]-1-[1-(2-hydroxypropan-2-yl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate (**32d**)

2-(2- $\{N$ -[(1-Hydroxycyclohexyl)methyl]glycyl}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-yl)propan-2-yl pivalate was synthesized in a manner similar to that for compound **32a**. 2-(2- $\{N$ -[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]glycyl}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-yl)propan-2-yl pivalate was obtained at a yield of 81% as a colorless oil. APCI MS  $m/z$  445  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . To a solution of 2-(2- $\{N$ -[(1-hydroxycyclohexyl)methyl]glycyl}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-yl)propan-2-yl pivalate (1.43g) in dichloromethane (15 mL) was added a solution of 1.01 M diisobutyl aluminum hydride in hexane (9.55 mL) at  $-78$  °C under an argon atmosphere. After stirring at  $-78$  °C for 5 hours, the mixture was warmed to  $0$  °C for 2 hours. The reaction was then quenched by the addition of saturated aqueous potassium sodium tartrate solution, stirred for 20 minutes and filtered through a celite pad. The filtrate was extracted with chloroform, washed with brine, dried over magnesium sulfate, and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with chloroform-methanol to give a colorless oil (118 mg), which was dissolved in ethanol (4 mL). Oxalic acid (32 mg) was added to the solution and concentrated *in vacuo*. The residue was washed with acetonitrile and filtered off to obtain compound **32d** (120 mg, 8%) as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.25–7.34 (1H, m), 7.24–7.10 (2H, m), 5.30 (major rotamer 1H, s), 4.56 (minor rotamer 1H, s), 4.22–4.32 (minor rotamer 1H, m), 4.08–4.20 (1H, m), 3.91–4.07 (2H, m), 3.53–3.70 (1H, m), 3.07–3.19 (major rotamer 1H, m), 2.77–2.94 (minor rotamer 1H, m), 2.77–2.94 (3H, m), 1.07–1.66 (16H, m); FAB MS  $m/z$  361  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### 第四章

##### 1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2-hydroxy-2-methylpropyl)amino]ethanone fumarate (37)

To a solution of compound 25a (200 mg) in acetonitrile (3 mL) was added potassium carbonate (474 mg) and 1-amino-2-methyl-2-propanol (244 mg). The reaction mixture was stirred for 3 hours at 60 °C. The mixture was diluted with chloroform and water, filtered through a phase separation filter and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, and eluted with chloroform-methanol to give the desired product as a colorless gum (198 mg). The gum was dissolved in 2-propanol (2 mL), and fumaric acid (67 mg) was added to the solution. The mixture was stirred at room temperature for 3 hours. The precipitate was filtered off to obtain the title compound 37 (185 mg, 59%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.09–7.24 (4H, m), 7.11 (fumaric acid 2H, s), 7.13 (major isomer 1H, d, *J* = 9.2 Hz), 4.43 (minor isomer 1H, d, *J* = 9.4 Hz), 4.16–4.27 (minor isomer 1H, m), 3.59–3.69 (2H, m), 3.48–3.57 (1H, m), 3.22–3.32 (minor isomer 1H, m), 2.78–2.98 (2H, m), 1.46–1.78 (6H, m), 0.96–1.21 (11H, m); FAB MS *m/z*: 345 [M+H]<sup>+</sup>.

##### 1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxybutyl]amino]ethanone oxalate (38)

Compound 38 was synthesized using a similar protocol to that for compound 37. Compound 38 was obtained in 50% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.13–7.26 (4H, m), 5.11 (1H, d, *J* = 9.4 Hz), 4.27–4.34 (minor isomer 1H, m), 3.51–4.26 (5H, m), 3.30–3.41 (minor isomer 1H, m), 2.72–3.03 (4H, m), 1.29–1.78 (7H, m), 0.96–1.22 (4H, m), 0.87 (3H, t, *J* = 7.4 Hz); FAB MS *m/z*: 345 [M+H]<sup>+</sup>.

##### 1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*S*)-2-hydroxybutyl]amino]ethanone oxalate (39)

Compound 39 was synthesized using a similar protocol to that for compound 37.



Compound **39** was obtained in 44% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.08–7.28 (4H, m), 7.11 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.28–4.35 (minor isomer 1H, m), 4.09–4.25 (1H, m), 3.96–4.07 (1H, m), 3.52–3.76 (3H, m), 3.28–3.39 (1H, m), 2.70–3.05 (4H, m), 1.28–1.79 (7H, m), 0.95–1.22 (4H, m), 0.86 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz); FAB MS  $m/z$ : 345  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (**40a**)

Compound **40a** was synthesized using a similar protocol to that for compound **37**. Compound **40a** was obtained in 68% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.10–7.26 (4H, m), 5.01 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.28–4.34 (minor isomer 1H, m), 3.23–4.24 (5H, m), 2.69–3.04 (4H, m), 1.45–1.79 (6H, m), 0.93–1.27 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 331  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 0.8\text{H}_2\text{O}$ : C, 60.76; H, 7.79; N, 6.44. Found: C, 60.73; H, 7.56; N, 6.41.

1-[(1*S*)-1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*H*)-yl]-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone fumarate ((1*S*)-**40a**)

Compound (1*S*)-**40a** was synthesized using a similar protocol to that for compound **40a**, except that (1*S*)-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline<sup>30</sup> was used as a starting material. Compound (1*S*)-**40a** was obtained in 37% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.07–7.25 (4H, m), 6.53 (fumaric acid 2H, s), 5.12 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 2.29–3.93 (9H, m), 1.42–1.78 (6H, m), 0.89–1.29 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 331  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$ : C, 64.29; H, 7.69; N, 6.25. Found: C, 64.24; H, 7.69; N, 6.21.  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} -30.7^\circ$  ( $c = 0.1$ , MeOH).

1-(1-Cyclohexyl-7-ethyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (**40b**)

Compound **40b** was synthesized using a similar protocol to that for compound **37**.

Compound **40b** was obtained in 67% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.17 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.03–7.09 (1H, m), 6.97 (1H, m), 5.07 (major isomer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.25–4.31 (minor isomer 1H, m), 4.09–4.22 (1H, m), 3.91–4.05 (2H, m), 3.61–3.70 (major isomer 1H, m), 3.50–3.60 (major isomer 1H, m), 3.28–3.37 (minor isomer 1H, m), 2.70–2.99 (4H, m), 2.51–2.61 (2H, m), 1.48–1.78 (6H, m), 0.95–1.21 (11H, m); ESI MS  $m/z$  359  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-7-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (**40c**)

Compound **40c** was synthesized using a similar protocol to that for compound **37**. Compound **40c** was obtained in 69% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.06–7.15 (2H, m), 6.96–7.02 (1H, m), 5.07 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz), 3.89–4.33 (4H, m), 3.48–3.70 (2H, m), 3.26–3.38 (minor isomer 1H, m), 2.69–2.99 (6H, m), 1.47–1.81 (8H, m), 0.95–1.23 (18H, m); FAB MS  $m/z$  373  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-Cyclohexyl-2- $\{N[(2*R*)-2\text{-hydroxypropyl}]glycyl\}$ -1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carbonitrile oxalate (**40d**)

Compound **40d** was synthesized using a similar protocol to that for compound **37**. Compound **40d** was obtained in 56% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.74 (1H, brs), 7.61–7.71 (1H, m), 7.36–7.44 (1H, m), 5.22 (major isomer 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 4.44–4.53 (minor isomer 1H, m), 4.20–4.30 (minor isomer 1H, m), 4.16 (major isomer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.90–4.09 (2H, m), 3.56–3.73 (major isomer 2H, m), 3.29–3.38 (minor isomer 1H, m), 2.86–3.07 (3H, m), 2.69–2.82 (1H, m), 1.38–1.78 (6H, m), 0.89–1.25 (8H, m); FAB MS  $m/z$  356  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-Cyclohexyl-2- $\{N[(2R)\text{-}2\text{-hydroxypropyl}]\text{glycyl}\}$ -1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-7-carbonitrile oxalate (40e)

Compound 40e was synthesized using a similar protocol to that for compound 37. Compound 40e was obtained in 60% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.66–7.75 (2H, m), 7.63 (minor isomer 1H, brs), 7.38–7.48 (1H, m), 5.20 (major isomer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.40–4.48 (minor isomer 1H, m), 4.20–4.29 (1H, m), 4.15 (major isomer 1H, d,  $J = 16.1$  Hz), 3.90–4.09 (2H, m), 3.56–3.73 (major isomer 2H, m), 3.30–3.39 (minor isomer 1H, m), 3.07 (2H, t,  $J = 6.1$  Hz), 2.85–3.00 (1H, m), 2.68–2.82 (1H, m), 1.37–1.79 (6H, m), 0.92–1.25 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 356  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2- $\{[(2S)\text{-}2\text{-hydroxypropyl}]\text{amino}\}$ ethanone oxalate (41)

Compound 41 was synthesized using a similar protocol to that for compound 37. Compound 41 was obtained in 66% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.09–7.27 (4H, m), 5.11 (major isomer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz) 3.25–4.36 (5H, m), 2.67–3.08 (4H, m), 1.45–1.78 (6H, m), 0.91–1.26 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 331  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2- $\{[(2S)\text{-}1\text{-hydroxy-}3,3\text{-dimethylbutan-}2\text{-yl}]\text{amino}\}$ ethanone oxalate (42)

Compound 42 was synthesized using a similar protocol to that for compound 37. Compound 42 was obtained in 68% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.09–7.26 (4H, m), 5.12 (major isomer 1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 3.53–4.45 (7H, m), 2.85–3.07 (2H, m), 1.45–1.79 (6H, m), 0.90–1.24 (14H, m); FAB MS  $m/z$ : 373  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2- $\{[(2S)\text{-}1\text{-hydroxy-}4\text{-methylpentan-}2\text{-yl}]\text{amino}\}$ ethanone oxalate (43)

Compound 43 was synthesized using a similar protocol to that for compound 37.

Compound **43** was obtained in 68% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.10–7.26 (4H, m), 5.12 (major isomer 1H, dd,  $J = 1.6, 9.4$  Hz), 4.41 (minor isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 2.79–4.31 (9H, m), 1.31–1.79 (9H, m), 0.95–1.26 (5H, m), 0.76–0.93 (6H, m); FAB MS  $m/z$ : 373  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

1-(1-Cyclohexyl-5-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (**40f**)

To a solution of compound **39f** (1.30 g) in ethyl acetate (20 mL) and saturated aqueous sodium bicarbonate (25 mL) was added a solution of chloroacetyl chloride (0.75 mL) in ethyl acetate (5 mL) at 4 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to give 2-chloro-1-(1-cyclohexyl-5-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (971 mg 65%) as a colorless solid. FAB MS  $m/z$  310  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . To a solution of compound 2-chloro-1-(1-cyclohexyl-5-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (290 mg) in acetonitrile (10 mL) was added potassium carbonate (736 mg), (2*R*)-1-amino-propanol (300 mg) and *N,N,N*-tributyl-1-butanaminium iodide (36 mg). The reaction mixture was stirred for 7 hours at 70 °C. The mixture was diluted with ethyl acetate and water, extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with chloroform–methanol to give the desired product as a colorless oil (270 mg). The oil was dissolved in a solution of 2-propanol and ether, and oxalic acid (70 mg) was added to the solution. The precipitate was filtered off to obtain the title compound **40f** (290 mg, 68%) as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-}d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.17–7.27 (1H, m), 6.98–7.14 (2H, m), 5.18 (major isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.36–4.46 (minor isomer 1H, m), 4.18 (major isomer 1H, dd,  $J = 2.5, 13.6$  Hz), 3.91–4.09 (2H, m), 3.67–3.77 (major isomer 1H, m), 3.54–3.64 (major isomer 1H, m), 3.22–3.32 (minor isomer 1H, m), 2.65–3.05 (4H, m), 1.48–1.79 (6H, m), 0.92–1.23

(8H, m); FAB MS  $m/z$ : 349 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-5-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (40g)**

Compound 40g was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40g was obtained in 20% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.33–7.40 (1H, m), 7.14 (1H, t,  $J = 7.9$  Hz), 6.84–6.91 (1H, m), 6.76 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 5.09 (major isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.32–4.41 (minor isomer 1H, m), 4.26–4.31 (minor isomer 1H, m), 4.17 (1H, d,  $J = 16.1$  Hz), 3.89–4.08 (3H, m), 3.51–3.71 (2H, m), 3.18–3.28 (minor isomer 1H, m), 3.78 (3H, s), 2.85–2.98 (1H, m), 2.65–2.81 (2H, m), 1.50–1.79 (6H, m), 0.91–1.22 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 361 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-6-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (40h)**

Compound 40h was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40h was obtained in 68% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.16–7.25 (1H, m), 6.96–7.13 (2H, m), 5.12 (major isomer 1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 4.31–4.40 (minor isomer 1H, m), 4.10–4.26 (1H, m), 3.90–4.07 (2H, m), 3.51–3.69 (major isomer 2H, m), 3.26–3.37 (minor isomer 1H, m), 2.69–3.06 (4H, m), 1.42–1.79 (6H, m), 0.90–1.23 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 349 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-6-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (40i)**

Compound 40i was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40i was obtained in 94% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  6.94–7.06 (3H, m), 5.06 (major isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.09–4.31 (1H, m), 3.90–4.06 (2H, m), 3.49–3.70 (major isomer 2H, m), 3.26–3.40 (minor isomer 1H, m), 2.68–3.00 (4H, m),

2.26 (3H, s), 1.47–1.81 (6H, m), 0.92–1.23 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 345 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (40j)**

Compound 40j was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40j was obtained in 68% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.01–7.09 (1H, m), 6.77–6.81 (1H, m), 6.70–6.76 (1H, m), 5.05 (major isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.27–4.33 (minor isomer 1H, m), 4.15–4.24 (minor isomer 1H, m), 3.94 (minor isomer 1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 3.73–3.92 (2H, m), 3.72 (3H, s), 3.52–3.66 (2H, m), 3.22–3.30 (minor isomer 1H, m), 2.57–2.98 (4H, m), 1.47–1.75 (6H, m), 0.95–1.17 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 361 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-Cyclohexyl-2-*N*-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]glycyl}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carboxamide oxalate (40k)**

Compound 40k was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40k was obtained in 32% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.92 (1H, brs), 7.73 (1H, brs), 7.64–7.71 (1H, m), 7.33 (1H, brs), 7.20–7.27 (1H, m), 5.17 (major isomer 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 4.35–4.44 (minor isomer 1H, m), 4.20–4.31 (minor isomer 1H, m), 4.15 (major isomer 1H, d,  $J = 16.1$  Hz), 3.89–4.07 (2H, m), 3.55–3.73 (major isomer 2H, m), 3.30–3.42 (1H, m), 2.84–3.07 (3H, m), 2.64–2.81 (1H, m), 1.44–1.79 (6H, m), 0.94–1.21 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 361 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-7-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]amino}ethanone oxalate (40l)**

Compound 40l was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40l was obtained in 97% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.18–7.31 (1H, m), 6.99–7.13 (2H, m), 5.15 (major isomer 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 4.33–4.41 (minor isomer 1H,

m), 4.09–4.24 (1H, m), 3.90–4.08 (2H, m), 3.53–3.71 (major isomer 2H, m), 3.28–3.38 (minor isomer 1H, m), 2.69–3.00 (4H, m), 1.43–1.78 (6H, m), 0.94–1.25 (8H, m); FAB MS  $m/z$  349 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-7-methyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl amino]ethanone oxalate (40m)

Compound 40m was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40m was obtained in 91% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.09 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.04 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 6.96 (1H, s), 5.05 (major isomer 1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.23–4.29 (minor isomer 1H, m), 4.10–4.21 (1H, m), 3.91–4.06 (2H, m), 3.60–3.69 (major isomer 1H, m), 3.49–3.59 (major isomer 1H, m), 3.28–3.37 (minor isomer 1H, m), 2.70–2.99 (4H, m), 2.28 (minor isomer 3H, s), 2.27 (major isomer 3H, s), 1.47–1.77 (6H, m), 0.94–1.22 (8H, m); FAB MS  $m/z$  345 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-7-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl amino]ethanone oxalate (40n)

Compound 40n was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40n was obtained in 64% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.06–7.15 (1H, m), 6.77–6.85 (1H, m), 6.71–6.76 (1H, m), 5.09 (major isomer 1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 4.27–4.35 (minor isomer 1H, m), 3.87–4.19 (2H, m), 3.73 (minor isomer 3H, s), 3.72 (major isomer 3H, s), 3.49–3.68 (2H, m), 3.28–3.37 (minor isomer 1H, m), 2.68–2.95 (4H, m), 1.48–1.77 (6H, m), 0.96–1.20 (8H, m); FAB MS  $m/z$  361 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(1-Cyclohexyl-8-fluoro-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropyl amino]ethanone oxalate (40o)

Compound 40o was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40o was obtained in 63% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.23–7.32 (1H, m),

7.02–7.15 (2H, m), 5.47 (major isomer 1H, d,  $J = 10.0$  Hz), 4.51 (minor isomer 1H, d,  $J = 8.7$  Hz), 3.91–4.22 (3H, m), 3.69–3.79 (major isomer 1H, m), 3.49–3.60 (major isomer 1H, m), 3.36–3.45 (minor isomer 1H, s), 2.86–3.14 (3H, m), 2.69–2.83 (1H, m), 1.52–1.83 (5H, m), 1.30–1.43 (1H, m), 0.97–1.24 (8H, m); ESI MS  $m/z$ : 349 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(1-Cyclohexyl-8-methoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropylamino]ethanone oxalate (40p)**

Compound 40p was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound 40p was obtained in 59% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.15–7.24 (1H, m), 6.78–6.91 (2H, m), 5.61 (major isomer 1H, d,  $J = 10.0$  Hz), 5.60 (minor isomer 1H, d,  $J = 9.8$  Hz), 3.83–4.18 (3H, m), 3.80 (minor isomer 3H, s), 3.77 (major isomer 3H, s), 3.68–3.76 (1H, m), 3.37–3.48 (1H, m), 2.70–3.12 (4H, m), 1.51–1.77 (5H, m), 1.25–1.35 (1H, m), 0.96–1.21 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 361 [M+H]<sup>+</sup>.

**2-[(2*R*)-2-Hydroxypropylamino]-1-[(1*S*)-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl]ethanone oxalate ((1*S*)-45a)**

Compound (1*S*)-45a was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound (1*S*)-45a was obtained in 45% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.15–7.40 (9H, m), 6.66 (major isomer 1H, s), 6.17 (minor isomer 1H, brs), 4.38 (minor isomer 1H, d,  $J = 16.1$  Hz), 4.22 (major isomer 1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 3.89–4.16 (2H, m), 3.60–3.70 (1H, m), 3.47–3.58 (1H, m), 3.35–3.45 (1H, m), 2.93–3.06 (2H, m), 2.72–2.91 (2H, m), 1.04–1.14 (3H, m); FAB MS  $m/z$ : 325 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 63.76; H, 6.32; N, 6.76. Found: C, 63.69; H, 6.33; N, 6.71.  $[\alpha]^{26}_D +115.2^\circ$  ( $c = 0.1$ , MeOH).

**1-(8-Fluoro-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-2-[(2*R*)-2-hydroxypropylamino]ethanone oxalate (45b)**

Compound 45b was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f.



Compound **45b** was obtained in 48% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.26–7.43 (4H, m), 7.07–7.23 (4H, m), 6.87 (major isomer 1H, brs), 6.17 (minor isomer 1H, d,  $J = 6.8$  Hz), 4.42–4.51 (minor isomer 1H, m), 4.07–4.31 (2H, m), 3.93–4.04 (1H, m), 3.63–3.73 (1H, m), 3.30–3.42 (1H, m), 2.74–3.15 (4H, m), 1.10 (major isomer 3H, d,  $J = 6.2$  Hz), 1.04 (minor isomer 3H, d,  $J = 6.2$  Hz); ESI MS  $m/z$ : 343  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2- $\{[(2R)\text{-}2\text{-Hydroxypropyl}]\text{amino}\}$ -1-(8-methyl-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2( $1H$ )-yl)ethanone oxalate (**45c**)

Compound **45c** was synthesized using a similar protocol to that for compound **40f**. Compound **45c** was obtained in 44% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.19–4.40 (4H, m), 7.01–7.17 (4H, m), 6.80 (major isomer 1H, brs), 5.96 (minor isomer 1H, brs), 4.41 (minor isomer 1H, brs), 3.92–4.22 (3H, m), 3.56–3.68 (1H, m), 3.28–3.39 (1H, m), 2.90–3.09 (2H, m), 2.70–2.89 (2H, m), 2.10 (minor isomer 3H, d,  $J = 5.1$  Hz), 2.03 (major isomer 3H, d,  $J = 3.4$  Hz), 1.11 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz); ESI MS  $m/z$ : 339  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

2- $\{[(2R)\text{-}2\text{-Hydroxypropyl}]\text{amino}\}$ -1- $[(1S)\text{-}8\text{-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2}(1H)\text{-yl}]$ ethanone oxalate (( $1S$ )-**45d**)

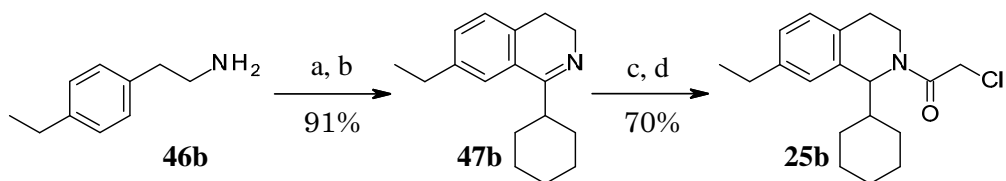
Compound ( $1S$ )-**45d** was synthesized using a similar protocol to that for compound **40f**. Compound ( $1S$ )-**45d** was obtained in 85% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.21–7.36 (4H, m), 7.14 (minor isomer 2H, d,  $J = 7.2$  Hz), 7.08 (major isomer 2H, d,  $J = 7.1$  Hz), 6.91–6.98 (1H, m), 6.84–6.90 (2H, m), 6.06 (minor isomer 1H, brs), 4.03–4.34 (2H, m), 3.93–4.03 (1H, m), 3.72 (minor isomer 3H, s), 3.71 (major isomer 3H, s), 3.53–3.63 (1H, m), 3.32–3.43 (1H, m), 2.91–3.05 (2H, m), 2.69–2.84 (2H, m), 1.07–1.13 (3H, m), 1.04 (1H, d,  $J = 6.2$  Hz); FAB MS  $m/z$ : 355  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ : C, 62.15; H, 6.35; N, 6.30. Found: C, 61.92; H, 6.39; N, 6.22.  $[\alpha]^{26}_D +97.8^\circ$  ( $c = 0.1$ , MeOH).

2-[[*(2R)*-2-Hydroxypropyl]amino]-1-[(*1R*)-8-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(*1H*)-yl]ethanone fumarate ((*1R*)-45d)

Compound (*1R*)-45d was synthesized using a similar protocol to that for compound 40f. Compound (*1R*)-45d was obtained in 41% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.19–7.34 (4H, m), 7.13 (minor isomer 2H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.06 (major isomer 2H, d, *J* = 7.3 Hz), 6.82–6.97 (3H, m), 6.52 (fumaric acid 2H, s), 6.17 (minor isomer 1H, brs), 3.75–3.97 (3H, m), 3.73 (minor isomer 3H, s), 3.70 (major isomer 3H, s), 3.58–3.66 (1H, m), 3.29–3.49 (1H, m), 2.90–3.02 (1H, m), 2.61–2.78 (3H, m), 1.01–1.10 (3H, m); FAB MS *m/z*: 355 [M+H]<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: C, 63.82; H, 6.43; N, 5.95. Found: C, 63.64; H, 6.42; N, 5.88. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>26</sup> -153.2° (c = 0.1, MeOH).

Preparations of 25b–25e, 24f–24p, 44b, 44c, (*S*)-44d, and (*R*)-44d

Scheme 5. Preparation of chloroacetamide 25b



Reagents and conditions: (a) cyclohexanecarbonyl chloride, sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., AcOEt, rt, 3 h; (b) (i) FeCl<sub>3</sub>, (COCl)<sub>2</sub>, 1,2-DCE, rt, 17 h; (ii) conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MeOH, reflux, 18 h; (c) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, rt, 1 h; (d) chloroacetyl chloride, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, AcOEt, rt, 1 h.

1-Cyclohexyl-7-ethyl-3,4-dihydroisoquinoline (47b)

To a solution of compound 46b (4.95 g) in ethyl acetate (25 mL) and saturated aqueous sodium bicarbonate (30 mL) was added a solution of cyclohexanecarbonyl chloride (4.95 mL) in ethyl acetate (5 mL) at 4 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours. The reaction mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, washed with 1 M aqueous sodium hydroxide solution and water, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to give *N*-[2-(4-ethylphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (7.85 g, 91%) as a colorless solid.

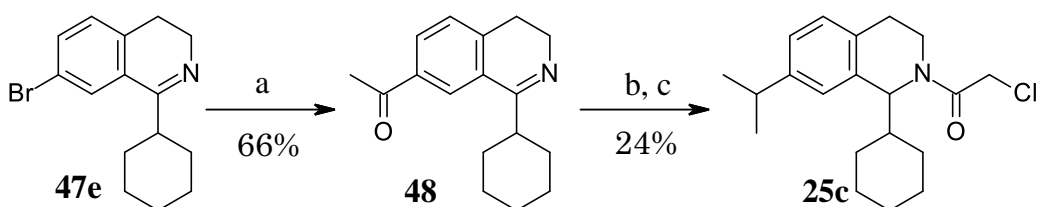
ESI MS  $m/z$  260  $[M+H]^+$ . (The following cyclization to obtain **47b** was carried out under the modified Bischler-Napieralski reaction condition<sup>38</sup>) To a solution of compound *N*-[2-(4-ethylphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (7.83 g) in 1,2-dichloroethane (200 mL) was added oxalyl chloride (3.16 mL) at 4 °C. After the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour, ferric chloride (5.9 g) was added to the mixture at 4 °C. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours. The reaction was quenched by the addition of 1 M aqueous hydrochloric acid solution, extracted with chloroform, washed with water and brine, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain 10*b*-cyclohexyl-9-ethyl-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (9.46 g quant.). ESI MS  $m/z$  314  $[M+H]^+$ . To a solution of concentrated sulfuric acid (27.7 mL) in methanol (115 mL) was added 10*b*-cyclohexyl-9-ethyl-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (9.46 g) and the mixture was heated under reflux for 18 hours. The mixture was concentrated *in vacuo* and neutralized with 1 M aqueous sodium hydroxide solution, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain the title compound **47b** (7.3 g, quant.) as a brown oil. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.33 (1H, brs), 7.06–7.21 (2H, m), 3.64 (2H, t,  $J$  = 7.5 Hz), 2.86–2.95 (1H, m), 2.56–2.71 (4H, m), 1.69–1.95 (5H, m), 1.16–1.52 (8H, m); FAB MS  $m/z$  242  $[M+H]^+$ .

#### **2-Chloro-1-(1-cyclohexyl-7-ethyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (25b)**

To a solution of **47b** (2.61 g) in methanol (15 mL) was added sodium borohydride (458 mg) at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The reaction was quenched by the addition of water, extracted with ethyl acetate, washed with water and brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate and added to a solution of 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (9.35 mL) at 4 °C. The precipitate was filtered off and washed with ethyl acetate to give a colorless solid (6.42 g, 74%), which was used for the next step without further purification. A part of the solid (842 mg) was dissolved in ethyl acetate (20 mL) and saturated aqueous sodium bicarbonate (15 mL) and a

solution of chloroacetyl chloride (0.27 mL) in ethyl acetate (5 mL) was added at 4 °C. After stirred at room temperature for 1 hour, the mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to give the title compound **25b** (917 mg, 95%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.02–7.11 (2H, m), 6.94 (major isomer 1H, brs), 6.88 (minor isomer 1H, brs), 5.23 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz), 4.33–4.43 (minor isomer 1H, m), 4.07–4.31 (2H, m), 3.70–3.87 (major 2H, m), 3.30–3.44 (minor isomer 1H, m), 2.84–3.06 (2H, m), 2.54–2.70 (2H, m), 1.53–1.90 (6H, m), 0.98–1.33 (8H, m); FAB MS  $m/z$ : 320 [M+H]<sup>+</sup>.

**Scheme 6. Preparation of chloroacetamide 25c**



Reagents and conditions: (a) (i) tributyl(1-ethoxyvinyl)tin, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, KF, 1,4-dioxane, 80 °C, 18 h; (ii) then, 4 M HCl/1,4-dioxane 80 °C, 30 min; (b) (i) Tebbe reagent, THF, rt, 45 min; (ii) H<sub>2</sub>, 20% Pd(OH)<sub>2</sub>/C, EtOH, rt, 13 h; (c) chloroacetyl chloride, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, AcOEt, rt, 1 h.

The synthesis of **47e** was described in the preparation of chloroacetamide **25e**.

**1-(1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinolin-7-yl)ethanone (48)**

To a solution of compound **47e** (3.85 g) in 1,4-dioxane (80 mL) was added tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (3.04 g), tributyl(1-ethoxyvinyl)tin<sup>49</sup> (9.52 g), and potassium fluoride (2.30 g), and the reaction mixture was stirred at 80 °C for 18 hours. After the mixture was filtered through a celite pad, 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate was added to the filtrate. The mixture was stirred at 80 °C for 30 minutes and then concentrated *in vacuo*. 1 M Aqueous hydrogen chloride solution was added to the residue and washed with diisopropylether. The liquid phase was

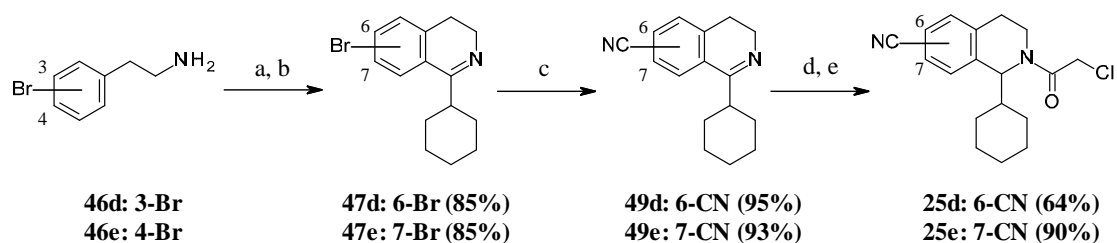
basified with 1 M aqueous sodium hydroxide solution, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane–ethyl acetate to obtain compound 48 (2.22 g, 66%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 8.11 (1H, d, *J* = 1.2 Hz), 7.92 (1H, dd, *J* = 1.7, 7.8 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 3.68 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.99 (1H, brs), 2.71 (2H, t, *J* = 7.1 Hz), 2.63 (3H, s), 1.70–1.97 (5H, m), 1.19–1.53 (5H, m); FAB MS *m/z* 256 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 2-Chloro-1-(1-cyclohexyl-7-isopropyl-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)ethanone (25c)

To a solution of compound 48 (600 mg) in tetrahydrofuran (6 mL) was added Tebbe reagent (0.5 M in toluene 4.7 mL), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 45 minutes. The mixture was diluted with ether, quenched by the addition of 10 drops of 1 M aqueous sodium hydroxide solution and dried over sodium sulfate. After the mixture was filtered through a celite pad, the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethanol (8 mL) and added with 20% palladium hydroxide on carbon (900 mg) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 13 hours. The mixture was filtered through a celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate (5 mL) and saturated aqueous sodium bicarbonate (8 mL) was added to a solution of cyclohexanecarbonyl chloride (0.19 mL) in ethyl acetate (3 mL) at 4 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours. The reaction mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, washed with 1 M aqueous sodium hydroxide and water, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography, eluting with hexane–ethyl acetate to obtain compound 25c (186 mg, 24%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 7.26 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.04–7.12 (2H, m), 6.96 (major isomer 1H, brs), 6.89 (minor isomer 1H, brs), 5.24 (major isomer 1H, d, *J* = 9.0 Hz), 4.33–4.43 (minor isomer 1H, m), 4.05–4.31 (2H, m), 3.70–3.86 (major

isomer 2H, m), 3.31–3.43 (minor isomer 1H, m), 2.79–3.06 (4H, m), 1.54–1.90 (6H, m), 0.98–1.35 (5H, m); EI MS  $m/z$ : 334 [M+H]<sup>+</sup>.

**Scheme 7. Preparations of chloroacetamides 25d and 25e**



Reagents and conditions: (a) cyclohexanecarbonyl chloride, sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., AcOEt, rt, 3 h; (b) (i) FeCl<sub>3</sub>, (COCl)<sub>2</sub>, 1,2-DCE, rt, 17 h; (ii) conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MeOH, reflux, 18 h; (c) Zn(CN)<sub>2</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene, *N*-methylpyrrolidone, 120 °C, 18 h; (d) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, rt, 1 h; (e) chloroacetyl chloride, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, AcOEt, rt, 1 h.

**6-Bromo-1-cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinoline (47d)**

Compound 47d was synthesized using a similar protocol to that for compound 47b. Compound 47d was obtained in 85% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.32–7.51 (3H, m), 3.66 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.77–2.91 (1H, m), 2.64 (2H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.68–1.96 (5H, m), 1.16–1.56 (5H, m); ESI MS  $m/z$ : 292 [M]<sup>+</sup>.

**7-Bromo-1-cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinoline (47e)**

Compound 47e was synthesized using a similar protocol to that for compound 47b. Compound 47e was obtained in 85% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.71 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.56 (2H, dd, *J* = 2.0, 7.6 Hz), 7.23 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 3.52 (2H, t, *J* = 7.8 Hz), 2.94 (1H, t, *J* = 11.0 Hz), 2.47–2.58 (2H, m), 1.62–1.80 (5H, m), 1.08–1.49 (5H, m); FAB MS  $m/z$ : 292 [M]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinoline-6-carbonitrile (49d)

To a solution of 47d (570 mg) in *N*-methylpyrrolidone (12 mL) was added tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) (90 mg), 1,1'-ferrocenebis(diphenylphosphine) (216 mg) and zinc cyanide (690 mg) under an argon atmosphere. The reaction mixture was stirred at 120 °C for 18 hours. After the mixture was filtered through celite pad, the filtrate was partitioned between ethyl acetate and water, extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with ethyl acetate–hexane to give the desired product 49d (442 mg, 95%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.55–7.64 (2H, m), 7.49 (1H, brs), 3.67–3.73 (2H, m), 2.87 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.68 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 1.64–1.96 (5H, m), 1.17–1.51 (5H, m); FAB MS *m/z* 239 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-3,4-dihydroisoquinoline-7-carbonitrile (49e)

Compound 49e was synthesized using a similar protocol to that for compound 49d. Compound 49e was obtained in 93% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.77 (1H, d, *J* = 1.3 Hz), 7.61 (2H, dd, *J* = 1.6, 7.74 Hz), 7.31 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 3.70 (2H, dt, *J* = 0.8, 7.4 Hz), 2.77–2.89 (1H, m), 2.71 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.69–1.95 (5H, m), 1.18–1.52 (5H, m); EI MS *m/z* 238 [M]<sup>+</sup>.

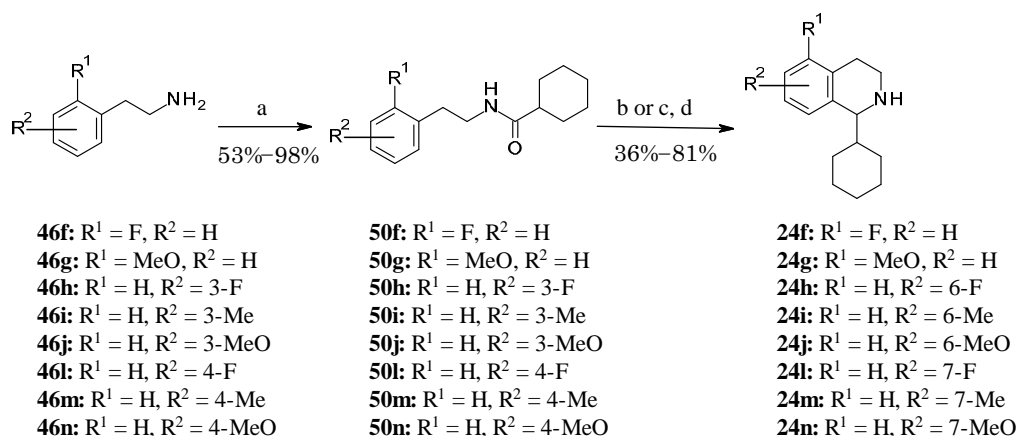
#### 2-(Chloroacetyl)-1-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carbonitrile (25d)

Compound 25d was synthesized using a similar protocol to that for compound 25b. Compound 25d was obtained in 64% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature. δ 7.38–7.51 (2H, m), 7.13–7.25 (1H, m), 5.34 (major isomer 1H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.34–4.53 (minor isomer 2H, m), 4.21 (minor isomer 1H, d, *J* = 12.2 Hz), 4.13 (2H, s), 3.73–3.41 (minor isomer 1H, m), 2.93–3.11 (2H, m), 1.58–1.91 (6H, m), 0.97–1.27 (5H, m); FAB MS *m/z* 317 [M+H]<sup>+</sup>.

## 2-(Chloroacetyl)-1-cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-7-carbonitrile (25e)

Compound **25e** was synthesized using a similar protocol to that for compound **25b**. Compound **25e** was obtained in 90% yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): This compound exists as a pair of rotamers at room temperature.  $\delta$  7.46–7.54 (1H, m), 7.42 (major isomer 1H, brs), 7.37 (minor isomer 1H, brs), 7.21–7.29 (1H, m), 5.30 (major isomer 1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 4.34–4.54 (minor isomer 1H, m), 4.36 (minor isomer 1H, d,  $J = 9.7$  Hz), 4.22 (minor isomer 1H, d,  $J = 12.3$  Hz), 4.13 (2H, s), 4.09 (minor isomer 1H, t,  $J = 12.3$  Hz), 3.73–3.92 (major isomer 2H, m), 1.50–1.90 (6H, m), 0.97–1.24 (5H, m); ESI MS  $m/z$ : 317  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## Scheme 8. Preparations of tetrahydroisoquinolines 24f–24j, 24l–24n



Reagents and conditions: (a) cyclohexanecarbonyl chloride, sat.  $\text{NaHCO}_3$  aq., AcOEt, rt, 3 h; (b) (i)  $\text{FeCl}_3$ ,  $(\text{COCl})_2$ , 1,2-DCE, rt, 17 h; (ii) conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , MeOH, reflux, 18 h; (c)  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{POCl}_3$ , toluene, 120  $^\circ\text{C}$ , 5 h; (d)  $\text{NaBH}_4$ , EtOH, rt, 1 h.

## *N*-[2-(2-Fluorophenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50f)

To a solution of compound **50f** (3.13 g) in ethyl acetate (20 mL) and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate (30 mL) was added dropwise a solution of cyclohexanecarbonyl chloride (3.36 mL) in ethyl acetate (10 mL) at 4  $^\circ\text{C}$ . The mixture was stirred at room temperature for 3 hours. The mixture was then extracted with ethyl acetate, washed with 1 M aqueous sodium hydroxide and water and dried over



magnesium sulfate. The resulting mixture was concentrated *in vacuo* to give the title compound **50f** (4.9 g, 87%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.13–7.25 (2H, m), 6.97–7.12 (2H, m), 5.52 (1H, brs), 3.50 (2H, q, *J* = 6.4 Hz), 2.86 (2H, t, *J* = 6.8 Hz), 1.95–2.08 (1H, m), 1.56–1.88 (5H, m), 1.09–1.46 (5H, m); FAB MS *m/z*: 250 [M+H]<sup>+</sup>.

***N*[2-(2-Methoxyphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50g)**

Compound **50g** was synthesized using a similar protocol to that for compound **50f**. Compound **50g** was obtained in 91% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.18–7.29 (1H, m), 7.06–7.16 (1H, m), 6.82–6.96 (2H, m), 5.65 (1H, m), 3.76–3.90 (4H, m), 3.48 (2H, q, *J* = 6.6 Hz), 2.82 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 1.92–2.06 (1H, m), 1.55–1.88 (5H, m), 1.10–1.46 (5H, m); FAB MS *m/z*: 262 [M+H]<sup>+</sup>.

***N*[2-(3-Fluorophenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50h)**

Compound **50h** was synthesized using a similar protocol to that for compound **50f**. Compound **50h** was obtained in 87% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.17–7.34 (1H, m), 6.80–7.01 (2H, m), 5.43 (1H, brs), 3.50 (2H, q, *J* = 6.8 Hz), 2.81 (2H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.91–2.10 (1H, m), 1.55–1.89 (5H, m), 1.06–1.48 (5H, m); FAB MS *m/z*: 250 [M+H]<sup>+</sup>.

***N*[2-(3-Methylphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50i)**

Compound **50i** was synthesized using a similar protocol to that for compound **50f**. Compound **50i** was obtained in 83% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.20 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 6.96–7.02 (2H, m), 5.41 (1H, brs), 3.45–3.55 (2H, m), 2.81 (2H, t, *J* = 6.6 Hz), 2.34 (3H, s), 2.01 (1H, t, *J* = 11.4 Hz), 1.58–1.87 (5H, m), 1.13–1.47 (5H, m); FAB MS *m/z*: 246 [M+H]<sup>+</sup>.

***N*[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50j)**

Compound **50j** was synthesized using a similar protocol to that for compound **50f**. Compound **50j** was obtained in 96% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.23 (1H, t, *J* = 7.9 Hz), 6.77 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.73 (1H, brs), 5.42 (1H, brs), 3.81 (3H, s),

3.51 (2H, q,  $J = 6.4$  Hz), 2.78 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz), 1.94–2.07 (1H, m), 1.61–1.87 (5H, m), 1.12–1.46 (5H, m); FAB MS  $m/z$ : 262 [M+H]<sup>+</sup>.

#### *N*[2-(4-Fluorophenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50l)

Compound 50l was synthesized using a similar protocol to that for compound 50f. Compound 50l was obtained in 98% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  6.80–7.40 (4H, m), 5.43 (1H, brs), 3.47 (2H, q,  $J = 7.0$  Hz), 2.78 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 0.98–2.20 (11H, m); FAB MS  $m/z$ : 250 [M]<sup>+</sup>.

#### *N*[2-(4-Methylphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50m)

Compound 50m was synthesized with using a similar protocol to that for compound 50f. Compound 50m was obtained in 53% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.04–7.16 (4H, m), 5.40 (1H, brs), 3.48 (2H, q,  $J = 6.8$  Hz), 2.76 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 2.33 (3H, s), 1.95–2.05 (1H, m), 1.52–1.86 (6H, m), 1.14–1.45 (5H, m); FAB MS  $m/z$ : 246 [M+H]<sup>+</sup>.

#### *N*[2-(4-Methoxyphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50n)

Compound 50n was synthesized with using a similar protocol to that for compound 50f. Compound 50n was obtained in 95% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.26 (1H, brs), 7.10 (2H, d,  $J = 6.7$  Hz), 6.85 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz), 5.43 (1H, brs), 3.80 (3H, s), 3.47 (2H, q,  $J = 6.8$  Hz), 2.75 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 1.95–2.05 (1H, m), 1.71–1.86 (4H, m), 1.61–1.69 (1H, m), 1.31–1.46 (2H, m), 1.14–1.29 (3H, m); FAB MS  $m/z$ : 262 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24f)

To a solution of compound 50f (4.89 g) in 1,2-dichloroethane (80 mL) was added oxalyl chloride (2.05 mL) at 4 °C. After the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour, ferric chloride (3.82 g) was added to the mixture at 4 °C. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours. The reaction was quenched by the addition of 1 M aqueous hydrochloric acid, extracted with chloroform, washed

with water and brine, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain

10*b*-cyclohexyl-7-fluoro-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (5.95 g quant.) as a brown oil. FAB MS *m/z* 304 [M+H]<sup>+</sup>. To a solution of concentrated sulfuric acid (18 mL) in methanol (72 mL) was added 10*b*-cyclohexyl-7-fluoro-6,10*b*-dihydro-5*H*[1,3]oxazolo[2,3-*a*]isoquinoline-2,3-dione (5.95 g) and the mixture was heated under reflux for 14 hours. The mixture was concentrated *in vacuo* and neutralized with 1 M aqueous sodium hydroxide, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain 1-cyclohexyl-5-fluoro-3,4-dihydroisoquinoline (4.28 g, 94%) as a brown solid. To a solution of 1-cyclohexyl-5-fluoro-3,4-dihydroisoquinoline (4.26 g) in methanol (80 mL) was added sodium borohydride (836 mg) at 4 °C. After the mixture was stirred at room temperature for 5 hours, the mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with water, extracted with chloroform and dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. 4 M Hydrogen chloride in ethyl acetate (4.6 mL) was then added to the residue. The precipitate was filtered off to give the title compound **24f** (3.76 g, 76%) as a pale yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.95 (1H, brs), 8.95 (1H, brs), 7.28–7.37 (1H, m), 7.15 (2H, t, *J* = 8.4 Hz), 4.43 (1H, brs), 3.34–3.51 (1H, m), 3.13–3.27 (1H, m), 2.84–3.04 (2H, m), 2.07 (1H, brs), 1.54–1.84 (4H, m), 1.01–1.46 (6H, m); FAB MS *m/z*: 234 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-5-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24g)

To a solution of compound **50g** (5.35 g) in toluene (150 mL) was added phosphorus pentoxide (4.36 g) and phosphoryl chloride (5.7 mL). The mixture was stirred at 120 °C for 5 hours. After cooling to room temperature, the mixture was concentrated *in vacuo*. 8 M aqueous potassium hydroxide was then added to the residue and extracted with chloroform and washed with brine and dried over magnesium sulfate. The mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with methanol–chloroform to obtain 1-cyclohexyl-5-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (1.8 g, 36%). FAB MS *m/z*: 244

[M-H]<sup>+</sup>. To a solution of 1-cyclohexyl-5-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (1.78 g) in methanol (20 mL) was added sodium borohydride (332 mg) at 4 °C. After the mixture was stirred at room temperature for 5 hours, the mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was diluted with water and extracted with chloroform and dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate (5 mL) and 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (2 mL) was then added to the mixture. The precipitate was filtered off to give the title compound **24g** (2.06 g, quant.) as a pale yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.31 (1H, brs), 8.87 (1H, brs), 7.21 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 6.76 (2H, d, *J* = 8.1 Hz), 4.34–4.53 (1H, m), 3.82 (3H, s), 3.67–3.78 (1H, m), 2.91–3.23 (3H, m), 1.09–1.94 (11H, m); FAB MS *m/z*: 246 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24h)

Compound **24h** was synthesized using a similar protocol to that for compound **24f**. Compound **24h** was obtained in 72% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.94 (1H, brs), 8.90 (1H, brs), 7.34 (1H, q, *J* = 5.6 Hz), 7.06–7.16 (2H, m), 4.38 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.30–3.48 (1H, m), 2.86–3.20 (3H, m), 2.03 (1H, brs), 1.51–1.83 (4H, m), 0.99–1.46 (6H, m); FAB MS *m/z*: 234 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-6-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24i)

Compound **24i** was synthesized using a similar protocol to that for compound **24f**. Compound **24i** was obtained in 55% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.79 (1H, brs), 8.66 (1H, brs), 7.18 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 6.84 (1H, dd, *J* = 2.6, 8.5 Hz), 6.79 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 4.30 (1H, d, *J* = 5.1 Hz), 3.74 (3H, s), 3.33–3.44 (1H, m), 2.97–3.18 (2H, m), 2.82–2.94 (1H, m), 1.99 (1H, brs), 1.56–1.81 (4H, m), 1.36–1.47 (1H, m), 1.03–1.31 (6H, m); CI MS *m/z*: 230 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 1-Cyclohexyl-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24j)

Compound **24j** was synthesized using a similar protocol to that for compound **24g**. Compound **24j** was obtained in 64% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.70 (1H, brs), 8.64 (1H, brs), 7.04–7.21 (2H, m), 7.03 (1H, brs), 4.33 (1H, brs),

3.35–3.49 (1H, m), 2.94–3.17 (2H, m), 2.79–2.90 (1H, m), 2.27 (3H, s), 2.02 (1H, brs), 1.56–1.79 (4H, m), 1.02–1.43 (6H, m); FAB MS  $m/z$  246 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-Cyclohexyl-7-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24l)**

Compound 24l was synthesized using a similar protocol to that for compound 24f. Compound 24l was obtained in 75% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.95 (1H, brs), 8.81 (1H, brs), 7.28 (1H, dd,  $J = 6.0, 8.5$  Hz), 7.20 (1H, dd,  $J = 2.6, 10.3$  Hz), 7.12 (1H, dt,  $J = 2.6, 8.5$  Hz), 4.41 (1H, d,  $J = 4.6$  Hz), 3.37–3.47 (1H, m), 2.84–3.16 (3H, m), 2.04–2.15 (1H, m), 1.57–1.81 (4H, m), 1.03–1.38 (6H, m); FAB MS  $m/z$  234 [M+H]<sup>+</sup>.

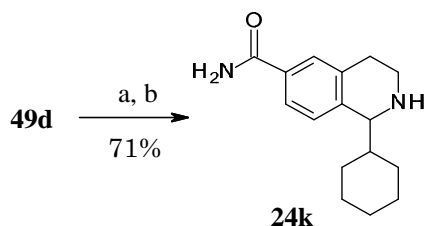
**1-Cyclohexyl-7-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24m)**

Compound 24m was synthesized with the similar procedure to that used for compound 24f. Compound 24m was obtained in 81% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.81 (1H, brs), 8.66 (1H, brs), 6.99–7.17 (3H, m), 4.32 (1H, brs), 3.35–3.44 (1H, m), 2.79–3.16 (3H, m), 2.28 (3H, s), 2.03 (1H, brs), 1.55–1.82 (4H, m), 1.02–1.44 (6H, m); FAB MS  $m/z$  230 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-Cyclohexyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24n)**

Compound 24n was synthesized using a similar protocol to that for compound 24f. Compound 24n was obtained in 75% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9.81 (1H, brs), 8.58 (1H, brs), 7.14 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 6.80–6.90 (2H, m), 4.30–4.39 (1H, m), 3.74 (3H, s), 3.30–3.44 (1H, m), 2.78–3.15 (3H, m), 2.06 (1H, brs), 1.55–1.83 (4H, m), 1.01–1.41 (6H, m); FAB MS  $m/z$  246 [M+H]<sup>+</sup>.

Scheme 9. Preparation of tetrahydroisoquinoline 24k



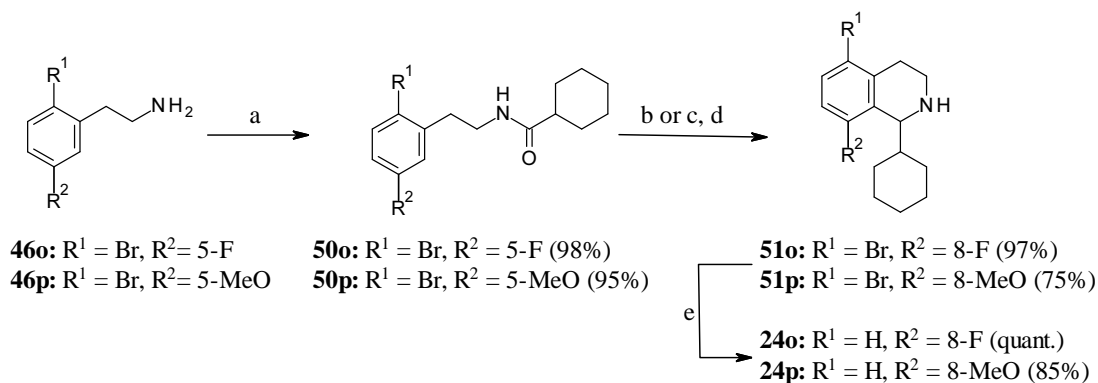
Reagents and conditions: (a) NaOH aq., 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aq., EtOH, 4 °C, 1.5 h; (b) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, rt, 1 h.

1-Cyclohexyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-6-carboxamide hydrochloride (24k)

To a mixture of compound 49d (2.03 g) in ethanol (40 mL) was added hydrogen peroxide (30% in water 9.66 g) and 1 M aqueous sodium hydroxide (11 mL) at 4 °C. After the mixture was stirred for 1.5 hours, the reaction was quenched by the addition of sodium sulfite. The mixture was partitioned between chloroform and water, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue (2.0 g) was dissolved in methanol (30 mL). Sodium borohydride (354 mg) was added to the mixture at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours. The reaction was quenched by the addition of water, extracted with chloroform, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate and added to a solution of 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (1.95 mL) at 4 °C. The precipitate was filtered off and washed with ethyl acetate to obtain the title compound 24k (1.78 g, 71%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.86 (1H, brs), 8.75 (1H, brs), 7.99 (1H, brs), 7.67–7.78 (2H, m), 7.29–7.45 (2H, m), 4.45 (1H, brs), 3.44 (1H, brs), 2.88–3.22 (3H, m), 2.09 (1H, brs), 1.53–1.84 (4H, m), 1.01–1.41 (6H, m); ESI MS *m/z*: 259 [M+H]<sup>+</sup>.

The synthesis of 49d was described in the preparation of chloroacetamide 25d.

Scheme 10. Preparations of tetrahydroisoquinolines 24o and 24p



Reagents and conditions: (a) cyclohexanecarbonyl chloride, sat. NaHCO<sub>3</sub> aq., AcOEt, rt, 3 h; (b) (i) FeCl<sub>3</sub>, (COCl)<sub>2</sub>, 1,2-dichloroethane, rt, 17 h; (ii) conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MeOH, reflux, 18 h; (c) P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, POCl<sub>3</sub>, toluene, 120 °C, 5 h; (d) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, rt, 1 h; (e) H<sub>2</sub>, 10% Pd/C, Et<sub>3</sub>N, EtOH, rt, 22 h.

*N*-[2-(2-Bromo-5-fluorophenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50o)

Compound 50o was synthesized using a similar protocol to that for compound 50f. Compound 50o was obtained in 98% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.77 (1H, t, *J* = 5.5 Hz), 7.61 (1H, dd, *J* = 5.5, 8.8 Hz), 7.14 (1H, dd, *J* = 5.5, 8.8 Hz), 7.05 (1H, dt, *J* = 3.3, 8.7 Hz), 3.30 (2H, q, *J* = 6.7 Hz), 2.82 (1H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.98–2.08 (1H, m), 1.53–1.73 (5H, m), 1.05–1.36 (5H, m); FAB MS *m/z*: 328 [M]<sup>+</sup>.

*N*-[2-(2-Bromo-5-methoxyphenyl)ethyl]cyclohexanecarboxamide (50p)

Compound 50p was synthesized using a similar protocol to that for compound 50f. Compound 50p was obtained in 95% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.72–7.80 (1H, m), 7.45 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.86 (1H, d, *J* = 2.9 Hz), 6.76 (1H, dd, *J* = 3.0, 8.7 Hz), 3.73 (3H, s), 3.27 (2H, q, *J* = 6.8 Hz), 2.78 (2H, t, *J* = 7.1 Hz), 2.04 (1H, t, *J* = 11.3 Hz), 1.53–1.73 (5H, m), 1.05–1.36 (5H, m); FAB MS *m/z*: 340 [M]<sup>+</sup>.

**5-Bromo-1-cyclohexyl-8-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (51o)**

Compound 51o was synthesized with the similar procedure to that used for compound 24f. Compound 51o was obtained in 97% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.55 (1H, brs), 7.69 (1H, dd, *J* = 5.1, 8.8 Hz), 7.18 (1H, t, *J* = 9.3 Hz), 4.48 (1H, d, *J* = 7.0 Hz), 3.26–3.48 (2H, m), 2.88–3.04 (2H, m), 1.81–1.95 (1H, m), 1.53–1.79 (4H, m), 1.00–1.45 (6H, m); FAB MS *m/z*: 312 [M+H]<sup>+</sup>.

**5-Bromo-1-cyclohexyl-8-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (51p)**

Compound 51p was synthesized using a similar protocol to that for compound 24g. Compound 51p was obtained in 75% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.85 (1H, brs), 9.16 (1H, brs), 7.58 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.94 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.42 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 3.82 (3H, s), 3.31–3.44 (1H, m), 3.17–3.27 (1H, m), 2.82–3.00 (2H, m), 1.85 (1H, brs), 1.53–1.73 (4H, m), 1.22–1.36 (2H, m), 0.99–1.21 (4H, m); FAB MS *m/z*: 324 [M]<sup>+</sup>.

**1-Cyclohexyl-8-fluoro-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrobromide (24o)**

To a mixture of compound 51o (517 mg) in ethanol (10 mL) was added 10% palladium on charcoal (50 mg) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 22 hours. The mixture was filtered through a celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo* to obtain title compound 24o (500 mg, quant.) as a yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.42 (1H, brs), 8.64 (1H, brs), 7.33–7.40 (1H, m), 7.10–7.17 (2H, m), 4.52 (1H, d, *J* = 6.2 Hz), 3.40–3.51 (1H, m), 3.19–3.30 (1H, m), 3.04 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 1.84–1.95 (1H, m), 1.57–1.76 (4H, m), 1.02–1.30 (6H, m); FAB MS *m/z*: 234 [M+H]<sup>+</sup>.

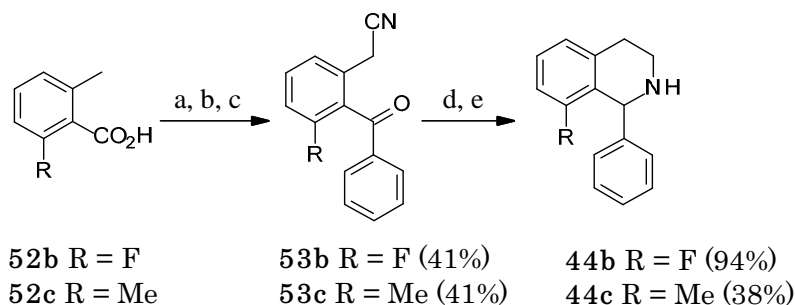
**1-Cyclohexyl-8-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (24p)**

Compound 24p was synthesized with a similar procedure to that used for compound 24o. Compound 24p was obtained in 85% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.72 (1H, brs), 8.74 (1H, brs), 7.26 (1H, t, *J* = 7.9 Hz), 6.92 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 6.83 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 4.42 (1H, brs), 3.80 (3H, s), 3.34–3.46 (1H, m), 3.09



(1H, brs), 2.93 (2H, d,  $J = 6.3$  Hz), 1.91 (1H, brs), 1.52–1.73 (4H, m), 1.04–1.42 (6H, m); FAB MS  $m/z$  246  $[M+H]^+$ .

**Scheme 11. Preparations of tetrahydroisoquinolines 44b and 44c**



Reagents and conditions: (a)  $AlCl_3$ , benzene, 100 °C, 8 h; (b) *N*-bromosuccinimide, 2,2'-azobis(isobutyronitrile),  $CCl_4$ , reflux, 4 h; (c) NaCN,  $H_2O$ , EtOH, 80 °C, 4 h; (d)  $H_2$ ,  $PtO_2$ , HCl, EtOH, rt, 3.5 h; (e)  $NaBH_4$ , MeOH, rt, 21 h; (f) benzoyl chloride,  $K_2CO_3$ ,  $H_2O$ , AcOEt, rt, 16 h.

#### (2-Benzoyl-3-fluorophenyl)acetonitrile (53b)

To a solution of aluminium chloride (15 g) in benzene (30 mL) was slowly added **52b** (5 g) at 4 °C under an argon atmosphere. The mixture was stirred at 100 °C for 8 hours. After cooling to room temperature, the mixture was added to the iced water and filtered through a celite pad, and the filtrate was extracted with chloroform, washed with 1 M aqueous sodium hydroxide, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to give (2-fluoro-6-methylphenyl)(phenyl)methanone (5.10 g, 73%) as a brown oil. EI MS  $m/z$  213  $[M-H]^+$ . To a solution of (2-fluoro-6-methylphenyl)(phenyl)methanone (6.08 g) in tetrachloromethane (60 mL) was added *N*-bromosuccinimide (7.5 g) and 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.3 g). The mixture was heated under reflux for 4 hours. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with water, extracted with chloroform, washed with saturated aqueous sodium bicarbonate and aqueous sodium thiosulfate solution, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo* to obtain [2-(bromomethyl)-6-fluorophenyl]phenylmethanone (8.36 g, quant.) as a brown oil. To

a solution of [2-(bromomethyl)-6-fluorophenyl]phenylmethanone (8.24 g) in ethanol (60 mL) and water (40 mL) was added sodium cyanide (2.13 g). The mixture was stirred at 80 °C for 4 hours. The mixture was diluted with water, extracted with ethyl acetate, washed with water, dried over magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluting with chloroform–hexane to give the desired product **53b** (2.76 g, 41%) as a brown oil. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.64–7.81 (4H, m), 7.59 (2H, t, *J* = 8.3 Hz), 7.49 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.42 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 3.72 (2H, s), 2.03 (3H, s); EI MS *m/z*: 234 [M]<sup>+</sup>.

#### (2-Benzoyl-3-methylphenyl)acetonitrile (**53c**)

Compound **53c** was synthesized using a similar protocol to that for compound **53b**. Compound **53c** was obtained in 41% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.67–7.74 (3H, m), 7.58 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.40 (1H, t, *J* = 8.9 Hz), 3.96 (2H, s); EI MS *m/z*: 234 [M-H]<sup>+</sup>.

#### 8-Fluoro-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (**44b**)

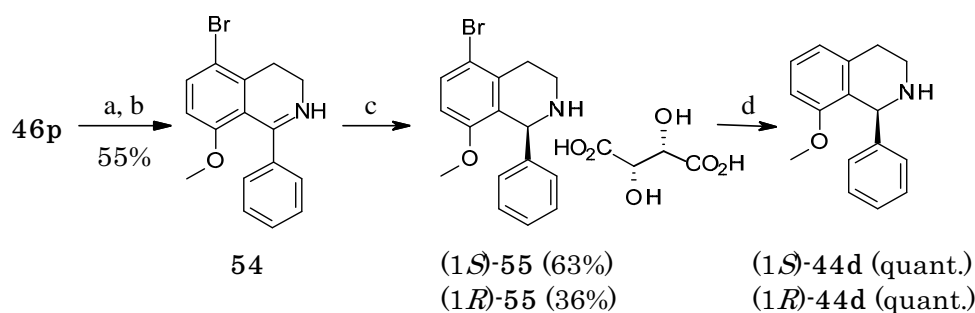
To a mixture of compound **53b** (2.72 g) in ethanol (40 mL) was added 4 M hydrogen chloride in 1,4-dioxane (4 mL) and platinum(IV) oxide (413 mg) under an argon atmosphere. The mixture was stirred at room temperature under a hydrogen atmosphere for 3.5 hours. The mixture was filtered through a celite pad and the filtrate was concentrated *in vacuo*. 1 M Aqueous hydrochloric acid was added to the mixture, and washed with toluene. The aqueous phase was basified with ammonia, extracted with toluene, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. 4 M hydrogen chloride in ethyl acetate (5 mL) was added to the residue and concentrated *in vacuo*. 2-propanol (20 mL) was added to the residue and the precipitate was filtered off to obtain 8-fluoro-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (1.04 g, 35%) as a yellow solid. EI MS *m/z*: 224 [M-H]<sup>+</sup>. To a solution of 8-fluoro-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (1.03 g) in ethanol (10

mL) and toluene (2 mL) was added sodium borohydride (0.2 g) at 4 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 13 hours and then concentrated *in vacuo*. Water was added to the residue, extracted with toluene, washed with water and brine, and dried over magnesium sulfate. 4 M Hydrogen chloride in ethyl acetate (2 mL) was added to the mixture and then concentrated *in vacuo* to obtain title compound **44b** (975 mg, 94%) as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.55 (1H, brs), 9.51 (1H, brs), 7.39–7.46 (3H, m), 7.28–7.34 (2H, m), 7.23 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.16 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 7.08 (1H, t, *J* = 8.7 Hz), 5.94 (1H, brs), 3.07–3.36 (4H, m); CI MS *m/z* 228 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 8-Methyl-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride (**44c**)

Compound **44c** was synthesized with the similar procedure to that used for compound **44b**. Compound **44c** was obtained in 38% yield as a colorless solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 10.32 (1H, brs), 9.46 (1H, brs), 7.37–7.47 (3H, m), 7.21–7.30 (3H, m), 7.19 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.08 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 5.89 (1H, brs), 3.17–3.29 (2H, m), 2.93–3.13 (2H, m); ESI MS *m/z* 224 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Scheme 12. Preparations of tetrahydroisoquinolines (*S*)-**44d** and (*R*)-**44d**



Reagents and conditions: (a) benzoyl chloride, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, AcOEt, rt, 16 h; (b) P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, POCl<sub>3</sub>, toluene, 120 °C, 3 h; (c) (i) BH<sub>3</sub>·THF, *cis*-1-amino-2-indanol ((1*R*,2*S*)-(+)-isomer for (1*S*)-55, (1*S*, 2*R*)-(–)-isomer for (1*R*)-55), Et<sub>2</sub>O, rt, 16 h; (ii) tartaric acid (D-(–)-isomer for (1*S*)-55, L-(+)-isomer for (1*R*)-55), 2-propanol, 80 °C, 1 d; (d) H<sub>2</sub>, 10% Pd/C, Et<sub>3</sub>N, EtOH, rt, 4 d.

**5-Bromo-8-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisoquinoline (54)**

Compound **54** was synthesized with the similar procedure to that used for compound **24p**. Compound **54** was obtained in 55% yield as a brown oil.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.69 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz), 7.27–7.43 (5H, m), 7.04 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 3.61 (2H, t,  $J = 7.0$  Hz), 3.42 (3H, s), 2.66 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz); EI MS  $m/z$  314  $[\text{M}\cdot\text{H}]^+$ .

**(1*S*)-5-Bromo-8-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ((1*S*)-55)**

To a mixture of (1*R*,2*S*)-(+)-*cis*-1-Amino-2-indanol (1.9 g) in ether (60 mL) was added borane tetrahydrofuran complex (1.0 M in tetrahydrofuran solution 24 mL) at 4 °C under an argon atmosphere.<sup>50</sup> After the mixture was stirred at room temperature under an argon atmosphere for 1 hour, compound **54** (3.1 g) was added to the mixture at 4 °C. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours. Trifluoroacetic acid (15 mL) was added to the mixture and then heated under reflux for 2 hours. After cooling to room temperature, the mixture was basified with ammonia, extracted with chloroform, washed with brine, dried over magnesium sulfate and then concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in 2-propanol (60 mL). A solution of D-(–)-tartaric acid (0.71 g) in 2-propanol (60 mL) was added to the mixture at 70 °C and the resulting mixture was stirred overnight at 80 °C. After cooling to room temperature, the precipitate was filtered off to obtain compound (1*S*)-55 (2.42 g, 63%) as a colorless solid. HPLC (Chiralpak OD-RH [0.46 cm I.D.  $\times$  15 cm], MeCN: borate buffer (pH 9.0) = 45/55 flow rate 0.8 ml/min., column temp.: 40 °C, UV: 230 nm): retention time:  $t_r = 28.98$  min (major),  $t_s = 22.92$  min (minor); 97.7% ee.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  7.56 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.20–7.33 (3H, m), 7.05–7.11 (2H, m), 6.85 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz), 5.34 (1H, s), 4.01 (1H, s), 3.55 (3H, s), 2.91–3.03 (1H, m), 2.71 (3H, brs); EI MS  $m/z$  317  $[\text{M}]^+$ .

**(1*R*)-5-Bromo-8-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ((1*R*)-55)**

Compound (1*R*)-55 was synthesized with a similar procedure to that used for compound (1*S*)-55. Compound (1*R*)-55 was obtained in 36% yield as a colorless solid. HPLC (Chiralpak OD-RH [0.46 cm I.D.  $\times$  15 cm], MeCN: borate buffer (pH 9.0) =

45/55 flow rate 0.8 ml/min., column temp.: 40 °C, UV: 230 nm): retention time:  $t_r$  = 22.72 min (major),  $t_s$  = 28.98 min (minor); >99% ee.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7.56 (1H, d,  $J$  = 8.7 Hz), 7.19–7.33 (3H, m), 7.05–7.10 (2H, m), 6.85 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz), 5.32 (1H, s), 4.02 (1H, s), 3.56 (3H, s), 2.88–3.00 (1H, m), 2.70 (3H, brs); EI MS  $m/z$ : 317  $[\text{M}]^+$ .

#### (1*S*)-8-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrobromide ((*S*)-44d)

Compound (*S*)-44d was synthesized with a similar procedure to that used for compound 24o. Compound (*S*)-44d was obtained in quantitative yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  9.70 (1H, brs), 9.11 (1H, brs), 7.32–7.42 (4H, m), 7.19–7.25 (2H, m), 6.95 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz), 6.91 (1H, d,  $J$  = 8.2 Hz), 5.83 (1H, s), 3.55 (3H, s), 2.93–3.32 (4H, m); FAB MS  $m/z$ : 240  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### (1*R*)-8-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrochloride ((*R*)-44d)

Compound (*R*)-44d was synthesized with a similar procedure to that used for compound 24o. Compound (*R*)-44d was obtained in quantitative yield as a colorless solid.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  10.38 (1H, brs), 9.34 (1H, brs), 7.31–7.41 (4H, m), 7.18–7.25 (2H, m), 6.94 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz), 6.89 (1H, d,  $J$  = 8.2 Hz), 5.75 (1H, s), 3.54 (3H, s), 2.92–3.26 (4H, m); CI MS  $m/z$ : 240  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

#### VCD analysis of (1*S*)-5-Bromo-8-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1*S*)-55

An absolute configuration of compound (1*S*)-55 was assigned using vibrational dichroism (VCD) spectra.<sup>44</sup>

#### Docking study of potent CYP2D6 inhibitor (1*S*)-45a

For docking simulation, the crystal structure of human cytochrome CYP2D6 in complex with 10-{2-[(2*R*)-1-methylpiperidin-2-yl]ethyl}-2-(methylsulfanyl)-10*H*-phenothiazine (RTZ, represented by residue name in the Protein Data Bank record 3TBG) was processed using the Protein Preparation Wizard of Maestro 9.7 (Schrodinger, Inc.,

New York, 2014) with default parameters. As the crystal structure contains four CYP2D6 molecules, we first removed discarded molecules for simulation and only one set of receptor, ligands and waters belonging to chain A were kept. The hydrogens were then added to them and energetically optimized using Prime. All docking processes were performed using Glide on Maestro 9.7. Given that the molecular size and pharmacophore positioning of RTZ are similar to that of (1*S*)-45a, grids defining the binding site were generated around one of two RTZ molecules observed in the crystal structure (RTZ1 in 3TBG).<sup>45</sup> All of the water molecules, including three blocking the route to heme (HOH 614, 615 and 628 in 3TBG), were kept as part of the receptor during grid generation. This was intended to prevent (1*S*)-45a from positioning nearby heme. Docking calculation was performed with the default parameter of Glide SP protocol, without any intentional restraint, and the best *glidescore* mode was selected as the CYP2D6 binding model of (1*S*)-45a. To understand why (1*S*)-45a has potency to CYP2D6, putative interactions between them were visualized using MOE 2013 (Chemical Computing Group Inc., Quebec, 2014) and Scorpion (Desert Scientific Software, Australia, 2014)

## Pharmacology

### Determination of solubility

The first fluid for disintegration test in Japanese Pharmacopoeia, pH 1.2 (JP1) and the second fluid for disintegration test in Japanese Pharmacopoeia, pH 6.8 (JP2) were used as the aqueous buffer. Small volumes of the compounds in DMSO were diluted to 130  $\mu\text{M}$  by adding the aqueous buffer. After incubation at 25 °C for 20 hours, precipitates were separated by filtration, and solubility of each filtrate was determined by HPLC analysis.

### Evaluation of inhibitory activity against N-type calcium channel using an in vitro FLIPR assay in IMR-32 human neuroblastoma cells.

Human neuroblastoma IMR-32 cells were cultured and differentiated as previously described with some modifications.<sup>51</sup> IMR-32 cells were plated onto poly-L-lysine-coated 96-well assay plates at a density of  $6 \times 10^4$  cells/well and incubated overnight (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>). Hank's balanced salt solution without phenol red and containing 20 mM HEPES and 0.5 mM probenecid was prepared on the day of assay and used as assay buffer. Cells were incubated with 100  $\mu\text{L}$  of fluo-3 AM (Dojindo, Kumamoto, Japan) in assay buffer at 37 °C for 1 hour. Plates were washed with wash buffer to remove loading buffer, and 100  $\mu\text{L}$ /well of the wash buffer was added. Plates were then placed into a FLIPR system (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Intracellular calcium concentration was measured for 12 minutes. During fluorescence intensity monitoring, 50  $\mu\text{L}$ /well of the compound, diluted with assay buffer containing 1  $\mu\text{M}$  nitrendipine, was added during the first 30 seconds, and 50  $\mu\text{L}$ /well KCl solution (final concentration: 50 mM) at 10 minutes and 10 seconds after the start of monitoring. The IC<sub>50</sub> values were determined by in duplicate in one experiment. And the IC<sub>50</sub> values and 95% confidence intervals were calculated using Sigmoid-Emax nonlinear regression analysis with SAS software (Cary, NC, USA).

## The inhibitory effects of (*S*)-22c on N-type calcium channels using the electrophysiological method

For electrical recording, differentiated IMR-32 cells were plated on poly-D-lysine coated glass coverslips at a density of approximately  $1.5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> and incubated for at least 3 hours prior to electrophysiological recording.<sup>52</sup> Whole-cell patch clamp recordings were obtained from differentiated IMR-32 cells using an Axopatch 1D amplifier (Axon Instruments, Foster City, CA, USA). Recording pipettes were constructed from borosilicate glasses (Harvard Apparatus Ltd, Fircroft Way Edenbridge, UK) with a micropipettes puller (MF-83, Narishige, Tokyo, Japan) and fire-polished in a microforge (PP-83, Narishige, Tokyo, Japan) to obtain electrode resistances ranging from 4 to 6 M $\Omega$ . Pipette solution contained 125 mM CsCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM EGTA, 4 mM MgATP, and 4 mM phosphocreatine disodium, pH 7.3 with CsOH. Internal cesium chloride was used to suppress potassium currents. Cells were perfused continuously with standard bath solution at room temperature (20–25 °C) containing 120 mM NaCl, 20 mM tetraethyl ammonium chloride, 3 mM KCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, and 10 mM glucose, pH 7.3 with NaOH. To isolate barium currents for whole-cell recording, the standard bath solution was replaced with a Ba<sup>2+</sup>-containing solution which contained 120 mM NaCl, 20 mM tetraethyl ammonium chloride, 3 mM KCl, 10 mM BaCl<sub>2</sub>, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM glucose, 2  $\mu$ M tetrodotoxin, and 1  $\mu$ M nitrendipine, pH 7.3 with NaOH. Tetrodotoxin was used to block sodium currents and nitrendipine to block L-type calcium currents, respectively. Membrane currents were elicited by 100 ms voltage steps from the holding potential ( $V_H$ ) of –70 or –90 mV to +10 mV. Test pulses were delivered at 30-sec intervals to allow recovery from inactivation. N-type calcium currents were isolated by subtracting ziconotide (1  $\mu$ M)-insensitive currents.

A multiple-barrel perfusion system was employed to achieve a rapid exchange of bath solutions. The barrels of the perfusion system were directly connected to syringes containing the control and test solutions. The flow rate of extracellular solutions was set at 0.5–1 mL/min. Data were filtered at 2 kHz with a 4-pole Bessel filter, digitized



at 50 kHz, and stored on compact disk for off-line analysis using a Digidata 1322A analog/digital interface along with the pClamp 8.0 software (Axon Instruments).

**Inhibitory activity against L-type calcium channels was evaluated using an *in vitro* FLIPR assay in IMR-32 human neuroblastoma cells.**

The inhibitory activity of (1*S*)-45d against L-type calcium channels was evaluated as described for the evaluation of inhibitory activity against N-type calcium channels using  $\omega$ -conotoxin MVIIA instead of nitrendipine.

#### **Evaluation of hERG inhibition using Rb Efflux assay**

CHO cells that stably expressed hERG channels cultured in D-MEM containing 10% FBS, 1% PS, 1% Ganeticin. Cell suspension was diluted to  $6 \times 10^5$  cells/ml. Cells were seeded into 96-well plates and cultured in CO<sub>2</sub> incubator for 24 hours. Culture medium was removed and cells were washed with wash buffer (130 mM NaCl, 3 mM KCl, 0.6 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM D-glucose: pH 7.3). Thereafter 100  $\mu$ L of Rb loading buffer (130 mM NaCl, 3 mM RbCl, 0.6 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM D-glucose: pH 7.3) was added. Cells were incubated in CO<sub>2</sub> incubator for 1.5 hours. Excess Rb-containing media was aspirated off and washed with wash buffer. Test compounds were carried in high K buffer (83 mM NaCl, 50 mM KCl, 0.6 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 10 mM D-glucose: pH 7.3), and then 100  $\mu$ L of the high K buffer was added to the plate. Cells were incubated at room temperature for 10 minutes. Supernatants were collected and transferred into another well (A). Cells were washed with the wash buffer and treated with 200  $\mu$ L of lysis buffer (1% Triton X-100 in wash buffer) to give cell lysate (B). Rb content in the supernatans (A) and the cell lysate (B) were determined using an atomic absorption spectroscopy reader (ICR 8000, Aurora Biosciences, Canada).

### Measurement of CYP inhibition

The inhibitory activities of test compounds against CYP1A2, 2C9, 2C19 and 2D6 were determined using fluorescence-based assay. Reaction mixtures containing recombinant human CYP protein, co-factors, fluorogenic substrate, test compound (0.8–50  $\mu\text{M}$ ) and potassium phosphate buffer (pH 7.4) were prepared. Fluorogenic substrates and assay conditions for different CYP isoforms are summarized in Table 5. Reactions were initiated by incubation at 37 °C. Incubation times for each isoform was as follows: 15 minutes (CYP1A2), 45 minutes (2C9), 30 minutes (2C19) and 30 minutes (2D6). After incubation, the reactions were terminated by addition of stop solution (20% 0.5 M Tris-base, 80% acetonitrile). Fluorescence was measured to quantify the metabolite formation, and  $\text{IC}_{50}$  determined.

**Table 18. Summary of assay conditions for different CYP450 enzymes**

CYP isoform	Protein conc. (pmol/mL)	Substrate	Substrate conc. ( $\mu\text{M}$ )
1A2	0.06	CEC	5
2C9	1.16	MFC	75
2C19	0.60	CEC	25
2D6	1.88	AMMC	1.5

For CYP3A4 inhibition assay, midazolam was used as a probe substrate to monitor the changes in CYP3A4 activity during the exposure to each test compound. 0.1 mg protein/mL reaction mixtures containing human liver microsomes, 1 mM NADPH, 0.1 mM EDTA, 100 mM  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  phosphate buffer (pH 7.4) and 5  $\mu\text{M}$  test compound were prepared and pre-incubated for 0 or 30 minutes at 37 °C. Reactions were initiated by the addition of 2  $\mu\text{M}$  of midazolam and incubated for additional 20 minutes before being terminated by addition of 80% acetonitrile with internal standard. Levels of the metabolite of midazolam, 1'-hydroxymidazolam, were measured using LC-MS/MS. Residual metabolic activities for reversible (eq. 1) and time-dependent (eq. 2) inhibition were calculated using the following equations:

$$\% \text{ Residual Activity} = \text{Activity}_{\text{compound, 0 min}} / \text{Activity}_{\text{vehicle, 0 min}} \times 100 \quad (\text{eq. 1})$$

$$\% \text{ Residual Activity} = (\text{Activity}_{\text{compound, 30 min}} / \text{Activity}_{\text{vehicle, 30 min}}) / (\text{Activity}_{\text{compound, 0 min}} / \text{Activity}_{\text{vehicle, 0 min}}) \times 100 \quad (\text{eq. 2})$$

where  $\text{Activity}_{\text{compound, 0 min}}$  denotes activity obtained in the presence of compound and without pre-incubation,  $\text{Activity}_{\text{vehicle, 0 min}}$  denotes activity obtained in the absence of compound and without pre-incubation,  $\text{Activity}_{\text{compound, 30 min}}$  denotes that obtained in the presence of compound and with pre-incubation, and  $\text{Activity}_{\text{vehicle, 30 min}}$  denotes that obtained in the absence of compound and with pre-incubation.

### 5.2.5 *In vitro* metabolic stability in human liver microsomes

Reaction mixtures containing 100 mM Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> phosphate buffer (pH 7.4), 0.2 mg protein/mL human liver microsomes, 1 mM NADPH and 0.1 mM EDTA were pre-incubated for 5 minutes at 37 °C. The reactions were initiated by the addition of test compound solution. The final concentration of test compound was 0.2 μM. After 0, 15, 30 and 45 minutes incubations at 37 °C, reactions were terminated by the addition of acetonitrile with internal standard. The reaction mixtures were centrifuged and supernatants injected into the LC-MS/MS system to determine the residual ratio of the test compound.

### 5.2.6 Calculation of *in vitro* intrinsic clearance

*In vitro* intrinsic clearance ( $CL_{\text{int, in vitro}}$ ) was calculated using equation 1, which is based on the time course of the residual ratio of the test compounds, as determined using least-squares linear regression as follows:<sup>53</sup>

$$CL_{\text{int, in vitro}} (\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}) = k_e / \text{microsomal protein concentration} \quad (1)$$

where  $k_e$  denotes the disappearance rate constant.

### **Animal experiments**

Male Sprague-Dawley rats (SLC, Hamamatsu, Japan) were used for all *in vivo* experiments. Animals were group-housed and kept on a 12-hour light/dark cycle (lights on from 7:30 AM to 7:30 PM) with free access to food and water. All animal experimental procedures were approved by the Committee for Animal Experiments of Astellas Pharma Inc. and conformed to the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS) and Guidelines for Proper Conduct of Animal Experiments (Science Council of Japan, 2006). All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

The efficacy of the test compound in neuropathic pain was evaluated in rat SNL model reported by Chung *et al.*<sup>54</sup> Effects of the test compound on motor coordination was assessed by rotarod test. The solution of the test compound in 10% dimethyl sulfoxide and 10% Cremophol was used in both test. Details of the experimental procedures have been previously described.<sup>55</sup>

We examined the antinociceptive effect of the test compound in mice formalin test previously published by Hunskar et al.<sup>56</sup> with slight modifications. Briefly, 2% formalin (20  $\mu$ L) was subcutaneously injected 15 minutes after intrathecal bolus/oral administration of the test compound. The summation of time spent in lifting/licking of the paw that received injections was measured. The duration of responses in the first 10 minutes and that from 15 to 25 minutes represent first and second phases, respectively.

## 参考文献

1. (a) Jensen, T. S.; Baron, R.; Haanpää, M.; Kalso, E.; Loeser, J. D.; Rice, A. S.; Treede, R-D. *Pain* 2011, *152*, 2204. (b) 住谷昌彦 神経障害性疼痛とはなにか—定義とその臨床的意義 *医学のあゆみ* 2013, *247*, 311.
2. 花岡一雄, 小川節郎, 堀田饒, 佐藤謙, 菊池臣一, 棚橋紀夫, 住谷昌彦 わが国における神経障害性疼痛の現状と今後の展望 *ペインクリニック* 2009, *30*, 1395.
3. Bushnell, M. C.; Ceko, M.; Low, L. A. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013, *14*, 502.
4. (a) van Hecke, O.; Austin, S. K.; Khan, R. A.; Smith, B. H.; Torrance, N. *Pain* 2014, *155*, 654. (b) Bouhassira, D.; Lanteri-Minet, M.; Attal, N.; Laurent, B.; Touboul, C. *Pain* 2008, *136*, 380. (c) Woolf, C. J.; Mannion, R. J. *Lancet* 1999, *353*, 1959.
5. 尾堂公彦, 洪景都, 井関雅子 鎮痛補助薬に対するガイドライン活用時の留意点 *薬局* 2013, *64*, 2107.
6. (a) Dworkin, R. H.; O'Connor, A.B.; Kent, J.; Mackey, S. C.; Raja, S. N.; Stacey, B. R.; Levy, R. M.; Backonja, M.; Baron, R.; Harke, H.; Loeser, J. D.; Treede, R-D.;

Turk, D. C.; Wells, C. D. *Pain* 2013, 154, 2249. (b) O'Connor, A.B.; Dworkin, R. H.

*Am. J. Med.* 2009, 122, S22. (c) Dworkin, R. H.; O'Connor, A.B.; Backonja, M.;

Farrar, J. T.; Finnerup, N.B.; Jensen, T. S.; Kalso, E. A.; Loeser, J. D.;

Miaskowski, C.; Nurmikko, T. J.; Portenoy, R. K.; Rice, A. S. C.; Stacey, B. R.;

Treede, R-D.; Turk, D. C.; Wallace, M. S. *Pain* 2007, 132, 237.

7. 小島至 カルシウムと細胞情報 羊土社 (1992)

8. (a) 栗原崇, 田邊勉 Nタイプカルシウムチャンネル *日薬理誌* 2003, 121, 211. (b)

Catterall, W. A.; Swanson, T. M. *Mol. Pharmacol.* 2015, 88, 141. (c) Simms, B. A.;

Zamponi, G. W. *Neuron* 2014, 82, 24.

9. (a) McGivern, J. G.; McDonough, S. I. *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord.*

2004, 3, 457. (b) McGivern, J. G. *Drug Discov. Today* 2006, 11, 245.

10. (a) Saegusa, H.; Kurihara, T.; Zong, S.; Kazuno, A.; Matsuda, Y.; Nonaka, T.; Han,

W.; Toriyama, H.; Tanabe, T. *EMBO J.* 2001, 20, 2349. (b) Kim, C.; Jun, K.; Lee,

T.; Kim, S.; McEnery, M.; Chin, H.; Kim, H.; Park, J.; Kim, D.; Jung, S.; Kim, J.;

Shin, H. *Mol. Cell. Neurosci.* 2001, 18, 235. (c) Hatakeyama, S.; Wakamori, M.;

Ino, M.; Miyamoto, N.; Takahashi, E.; Yoshinaga, T.; Sawada, K.; Imoto, K.;

Tanaka, I.; Yoshizawa, T.; Nishizawa, Y.; Mori, Y.; Niidome, T.; Shoji, S.

*Neuroreport* 2001, 12, 2423.

11. (a) Miljanich, G. P. *Curr. Med. Chem.* 2004, 11, 3029. (b) Schmidtke, A.; Lötsch, J.; Freynhagen, R.; Geisslinger, G. *Lancet* 2010, 375, 1569. (c) Pope, J. E.; Deer, T. R. *Expert Opin. Pharmacother.* 2013, 14, 957.
12. (a) Wang, Y-X.; Bowersox, S. S. *CNS Drug Reviews* 2000, 6, 1. (b) McGivern J. G. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2007, 3, 69.
13. (a) Yamamoto, T.; Takahara, A. *Curr. Top. Med. Chem.* 2009, 9, 377. (b) Bear, B.; Asgian, J.; Termin, A.; Zimmermann, N. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.* 2009, 12, 543. (c) Pexton, T.; Moeller-Bertram, T.; Schilling, J. M.; Wallace, M. S. *Expert Opin. Invest. Drugs* 2011, 20, 1277. (d) Barrow, J. C.; Duffy J. L. *Annu. Rep. Med. Chem.* 2010, 45, 2.
14. Lee, M. S. *Prog. Med. Chem.* 2014, 53, 147.

15. (a) Yamamoto, T.; Niwa, S.; Ohno, S.; Onishi, T.; Matsueda, H.; Koganei, H.; Uneyama, H.; Fujita, S.; Takeda, T.; Kito, M.; Ono, Y.; Saitou, Y.; Takahara, A.; Iwata, S.; Shoji, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 798. (b) Yamamoto, T.; Niwa, S.; Ohno, S.; Tokumasu, M.; Masuzawa, Y.; Nakanishi, C.; Nakajo, A.; Onishi, T.; Koganei, H.; Fujita, S.; Takeda, T.; Kito, M.; Ono, Y.; Saitou, Y.; Takahara, A.; Iwata, S.; Shoji, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 4813. (c) Yamamoto, T.; Ohno, S.; Niwa, S.; Tokumasu, M.; Hagihara, M.; Koganei, H.; Fujita, S.; Takeda, T.; Saitou, S.; Iwayama, S.; Takahara, A.; Iwata, S.; Shoji, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 3317. (d) Yamamoto, T.; Niwa, S.; Tokumasu, M.; Onishi, T.; Ohno, S.; Hagihara, M.; Koganei, H.; Fujita, S.; Takeda, T.; Saitou, S.; Iwayama, S.; Takahara, A.; Iwata, S.; Shoji, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 3639.
16. (a) Zamponi, G. W.; Feng, Z-P.; Zhang, L.; Pajouhesh, H.; Ding, Y.; Belardetti, F.; Pajouhesh, H.; Dolphin, D.; Mitscher, L. A.; Snutch, T. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 6467. (b) Pajouhesh, H.; Feng, Z-P.; Ding, Y.; Zhang, L.; Pajouhesh,



H.; Morrison, J.-L.; Belardetti, F.; Tringham, E.; Simonson, E.; Vanderah, T. W.;

Porreca, F.; Zamponi, G. W.; Mitscher, L. A.; Snutch, T. P. *Bioorg. Med. Chem.*

*Lett.* 2010, 20, 1378. (c) Pajouhesh, H.; Feng, Z-P.; Zhang, L.; Pajouhesh, H.;

Jiang, X.; Hendricson, A.; Dong, H.; Tringham, E.; Ding, Y.; Vanderah, T. W.;

Porreca, F.; Belardetti, F.; Zamponi, G. W.; Mitscher, L. A.; Snutch, T. P. *Bioorg.*

*Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 4153.

17. (a) Tyagarajan, S.; Chakravarty, P. K.; Park, M.; Zhou, B.; Herrington, J. B.;

Ratliff, K.; Bugianesi, R. M.; Williams, B.; Haedo, R. J.; Swensen, A. M.; Warren,

V. A.; Smith, M.; Garcia, M.; Kaczorowski, G. J.; McManus, O. B.; Lyons, K. A.; Li,

X.; Madeira, M.; Karanam, B.; Green, M.; Forrest, M. J.; Abbadie, C.; McGowan,

E.; Mistry, S.; Jochnowitz, N.; Duffy, J. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 21, 869.

(b) Shao, P. P.; Ye, F.; Chakravarty, P. K.; Varughese, D. J.; Herrington, J. B.; Dai,

G.; Bugianesi, R. M.; Haedo, R. J.; Swensen, A. M.; Warren, V. A.; Smith, M. M.;

Garcia, M. L.; McManus O. B.; Lyons, K. A.; Li, X.; Green, M.; Jochnowitz, N.;

McGowan, E.; Mistry, S.; Sun, S-Y; Abbadie, C.; Kaczorowski, G. J.; Duffy, J. L. *J.*

*Med. Chem.* 2012, 55, 9847. (c) Shao, P. P.; Ye, Fe.; Chakravarty, P. K.;

Herrington, J. B.; Dai, G.; Bugianesi, R. M.; Haedo, R. J.; Swensen, A. M.;

Warren, V. A.; Smith, M. M.; Garcia, M. L.; McManus, O. B.; Lyons, K.A.; Li, X.;

Green, M.; Jochnowitz, N.; McGowan, E.; Mistry, E.; Sun, S.-Y.; Abbadie, C.;

Kaczorowski, G. J.; Duffy, J. L. *ACS Med. Chem. Lett.* 2013, 4, 1064.

18. (a) Abbadie, C.; McManus, O. B.; Sun, S-Y; Bugianesi, R. M.; Dai, G.; Haedo, R.

J.; Herrington, J. B.; Kaczorowski, G. J.; Smith, M. M.; Swensen, A. M.; Warren,

V. A.; Williams, S.; Arneric, S. P.; Eduljee, C.; Snutch, T. P.; Tringham, E. W.;

Jochnowitz, N.; Liang, A.; MacIntyre, D. E.; McGowan, E.; Mistry, S.; White, V.

V.; Hoyt, S. B.; London, C.; Lyons, K. A.; Bunting, P. B.; Volksdorf, S.; Duffy, J. L.

*J Pharmacol. Exp. Ther.* 2010, 334, 545. (b) Swensen, A. M.; Herrington, J.;

Bugianesi, R. M.; Dai, G.; Haedo, R. J.; Ratliff, K. S.; Smith, M. M.; Warren, V.

A.; Arneric S. P.; Eduljee, C.; Parker, D.; Snutch, T. P.; Hoyt, S. B.; London, C.;

Duffy, J. L.; Kaczorowski, G. J.; McManus, O. B. *Mol. Pharmacol.* 2012, 81, 488.

19. Snutch, T. P *NeuroRx* 2005, 2, 662.

20. (a) Doherty, G. A.; Bhatia, P. Vortherms, T. A.; Marsh, K. C.; Wetter, J. M.; Mack, H.; Scott, V. E.; Jarvis M. F.; Stewart, A. O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 1716. (b) Scott, V. E.; Vortherms, T. A.; Niforatos, W.; Swensen, A. M.; Neeland, T.; Milicic, I.; Banfor, P. N.; King, A.; Zhong, C.; Simler, G.; Zhan, C.; Bratcher, N.; Boyce-Rustay, J. M.; Zhu, C. Z.; Bhatia, P.; Doherty, G.; Mack, H.; Stewart, A. O.; Jarvis M. F. *Biochem. Pharmacol.* 2012, 83, 406.
21. (a) Beebe, X.; Darczak, D.; Henry, R. F.; Vortherms, T.; Janis R.; Namovic, M.; Donnelly-Roberts, D.; Kage, K. L.; Surowy, C.; Milicic, I.; Niforatos, W.; Swensen, A.; Marsh, K. C.; Wetter, J. M.; Franklin, P.; Baker, S.; Zhong, C.; Simler, G.; Gomez, E.; Boyce-Rusty, J. M.; Zhu, C. Z.; Stewart A. O.; Jarvis, M. F.; Scott, V. E. *Bioorg. Med. Chem.* 2012, 20, 4128. (b) Beebe, X.; Yeung, C. M.; Darczak, D.; Shekhar, S.; Vortherms, T. A.; Miller, L.; Milicic, I.; Swensen, A. M.; Zhu, C. Z.; Banfor, P.; Wetter, J. M.; Marsh, K. C.; Jarvis, M. F.; Scott, V. E.; Schrimpf, M. R.; Lee, C-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 4857.

22. (a) 金子周司 導入説明：イオンチャネル創薬の現状・特徴・課題 *日薬理誌* 2005, 126, 306. (b) 澤田光平, 日原裕恵, 吉永貴志 電位依存性イオンチャネル探索研究における蛍光および電気生理学的高速スクリーニング (HTS) 法 *日薬理誌* 2005, 126, 321. (c) Bagal, S. K.; Brown, A. D.; Cox, P. J.; Omoto, K.; Owen, R. M.; Pryde, D. C.; Sidders, B.; Skerratt, S. E.; Stevens, E. B.; Storer, R. I.; Swain N. A. *J. Med. Chem.* 2013, 56, 593.
23. (a) Swenson, A. M.; Niforatos, W.; Vortherms, T. A.; Perner, R. J.; Li, T.; Schrimpf, M. R.; Scott, V. E.; Lee, L.; Jarvis, M. F.; McGaraughty, S. *Assay Drug Dev. Technol.* 2012, 10, 542. (b) Finley, M. F. A.; Lubin, M. L.; Neeper, M. P.; Beck, E.; Liu, Y.; Flores, C. M.; Qin, N. *Assay Drug Dev. Technol.* 2010, 8, 685.
24. Wu, J.; Yan, Z.; Li, Z.; Yan, C.; Lu, S.; Dong, M.; Yan, N. *Science* 2015, 350, aad2395.
25. (a) Recanatini, M.; Poluzzi, E.; Masetti, M.; Cavalli, A.; De Ponti, F. *Med. Res. Rev.* 2005, 25, 133. (b) Lagrutta, A. A.; Trepakova, E. S.; Salata, J. J.; *Curr. Top.*

- Med. Chem.* 2008, 8, 1102. (c) Bell, I. M.; Bilodeau, M. T. *Curr. Top. Med. Chem.* 2008, 8, 1128.
26. Morgan, T. K.; Sullivan, M. E. *Prog. Med. Chem.* 1992, 29, 65.
27. (a) Mitcheson, J. S.; Chen, J.; Lin.; Culberson, C.; Sanguinetti, M. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000, 97, 12329. (b) Mitcheson, J. S.; Perry, M. D. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.* 2003, 6, 667.
28. (a) Fernandez, D.; Ghanta, A.; Kauffman, G. W.; Sanguinetti, M. C. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 10120. (b) Jamieson, C.; Moir, E. M.; Rankovic, Z.; Wishart, G. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 5029. (c) Farid, R.; Day, T.; Friesner, R. A.; Pearlstein, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 3160. (d) Boukharta, L.; Keränen, H.; Sary-Weinzinger, A.; Wallin, G.; de Groot, B. L.; Åqvist, J. *Biochemistry* 2011, 50, 6146.
29. 化合物 22c, 22d, 22e, (S)-22c および (R)-22c は、良好な水溶性を有している(JP1; >100  $\mu$ M, JP2; >100  $\mu$ M)。
30. Li, C.; Xiao, J. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 13208.

31. Ciaccio, J. A.; Drahus, A. L.; Meis, R. M.; Tingle, C. T.; Smrtka, M.; Geneste, R.  
*Synth. Commun.* 2003, 33, 2135.
32. Ogiyama, T.; Inoue, K.; Yonezawa, S.; Watanabe, T.; Kiso, T.; Gotoh, T.; Koakutsu,  
A.; Kakimoto, S.; Shishikura, J. *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22, 6899.
33. (a) Zhou, S-F.; Liu, J-P.; Lai, X-S. *Curr. Med. Chem.* 2009, 16, 2661. (b) Zhou, S-F.  
*Curr. Pharm. Des.* 2008, 14, 990.
34. (a) Bockbrader, H. N.; Wesche, D.; Miller, R.; Chapel, S.; Janiczek, N.; Burger, P.  
*Clin. Pharmacokinet.* 2010, 49, 661. (b) Spina, E.; Trifiro, G.; Caraci, F. *CNS  
Drugs* 2012, 26, 39. (c) Wernicke, J. F.; Gahimer, J.; Yalcin, I.; Wulster-Radcliff,  
M.; Viktrup, L. *Expert Opin. Drug Saf.* 2005, 4, 987. (d) Shin, J-G.; Park, J-Y.;  
Kim, M-J.; Shon, J-H.; Yoon, Y-R.; Cha, I-J.; Lee, S-S.; Oh, S-W.; Kim, S-W.;  
Flockhart, D. A. *Drug Metab. Dispos.* 2002, 30, 1102.
35. (a) Brändén, G.; Sjögren, T.; Schnecke, V.; Xue, Y. *Drug Discov. Today* 2014, 19,  
905. (b) Stoll, F.; Göller, A.; Hillisch, A. *Drug Discov. Today* 2011, 16, 530. (c)  
Moroy, G.; Martiny, V. Y.; Vayer, P.; Villoutreix, B. O.; Miteva, M. A. *Drug Discov.*

- Today* 2012, 17, 44. (d) Güner, O.; Bowen, J. P. *Curr. Top. Med. Chem.* 2013, 13, 1327.
36. (a) Kumar, S.; Sharma, R.; Roychowdhury, A. *Curr. Med. Chem.* 2012, 19, 3605.
- (b) Bourdonnec, B.; Leister, L. *Curr. Med. Chem.* 2009, 16, 3093. (c) de Groot, M. J.; Wakenhut, F.; Whitlock, G.; Hyland, R. *Drug Discov. Today* 2009, 14, 964.
37. 同様な内容はここに挙げた論文においても報告されている。 (a) Fray, M. J.; Bish, G.; Fish, P. V.; Stobie, A.; Wakenhut, F.; Whitlock, G. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 4349. (b) Fish, P. V.; Fray, M. J.; Stobie, A.; Wakenhut, F.; Whitlock, G. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17, 2022. (c) Hudson, S.; Kiankarimi, M.; Eccles, W.; Dwight, W.; Mostofi, Y. S.; Genicot, M. J.; Fleck, B. A.; Gogas K.; Aparicio, A.; Wang, H.; Wen, J.; Wade, W. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 4491. (d) Pontillo, J.; Wu, D.; Ching, B.; Hudson, S.; Genicot, M. J.; Gao, Y.; Ewing, T.; Fleck, B. A.; Gogas, K.; Aparicio, A.; Wang, H.; Wen, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 6151. (e) Ishichi, Y.; Kimura, E.; Honda, E.; Yoshikawa, M.;

- Nakahata, T.; Terao, Y.; Suzuki, A.; Kawai, T.; Arakawa, Y.; Ohta, H.; Kanzaki, N.; Nakagawa, H.; Terauchi, J. *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 21, 4600.
38. Larsen, R.; Reamer, R.; Corley, E.; Davis, P.; Grabowski, E.; Reider, P.; Shinkai, I. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 6034.
39. (a) 化合物 31e および 31f の合成: Seebach, D.; Lohmann, J-J.; Syfrig, M. A.; Yoshifuji, M. *Tetrahedron* 1983, 39, 1963. (b) 化合物 31i の合成: Kitabatake, M.; Nagai, J.; Abe, K.; Tsuchiya, Y.; Ogawa, K.; Yokoyama, T.; Mohri, K.; Taguchi, K.; Horiguchi, Y. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 4034.
40. 化合物 31o, 31r-31t の合成: Watanuki, S.; Matsuura, K.; Tomura, Y.; Okada, M.; Okazaki, T.; Ohta, M.; Tsukamoto, S. *Chem. Pharm. Bull.* 2011, 59, 1029.
41. Pfeiffer, C. C. *Science* 1956, 124, 29.
42. Scott, D. A.; Wright, C. E.; Angus, J. A. *Eur. J. Pharmacol.* 2002, 451, 279.
43. Ogiyama, T.; Yonezawa, K.; Inoue, M.; Watanabe, T.; Sugano, Y.; Gotoh, T.; Kiso, T.; Koakutsu, A.; Kakimoto, S.; Shishikura, J. *Bioorg. Med. Chem.* 2015, 23, 4624.



44. (a) Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Pan, J-J. *Chirality* 2008, 20, 643. (b) Nafie, L. A.;

Freedman, T. B. Vibrational optical activity theory. In *Circular Dichroism.*

*Principles and Applications*; 2nd ed.; Berova, N., Nakanishi, K., Woody, R. W.,

Eds. Wiley-VCH: New York, 2000; pp 97.

45. CYP2D6 と RTZ の複合体 X 線結晶構造は、RCSB protein data bank に Wang, A.

らにより登録されている(PDB code 3TBG)。

46. 8-メトキシテトラヒドロイソキノリンおよびテトラヒドロイソキノリンの立体化学

の解析は MOE with MMFF94x force field 中の Conformation Import module にて

行った。それぞれの立体化学におけるポテンシャルエネルギーは MOPAC 2012 に

て PM6 法にて計算した。8-メトキシテトラヒドロイソキノリンおよびテトラヒドロ

イソキノリンのエネルギーの最も低い立体化学を最も安定な立体化学として選択し

た。テトラヒドロイソキノリンと C1 位のフェニル基の二つの平面が成す二面角は、

MOE 2013 (Chemical Computing Group Inc., Quebec, 2014)にて測定した。テト

ラヒドロイソキノリンと C1 位のフェニル基の二つの平面が成す二面角は、 $C\alpha-C\beta-$

C $\chi$  からなる平面と C $\beta$ -C $\chi$ -C $\delta$ からなる平面が成す二面角を表す。それぞれの炭素

原子( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\chi$ , および  $\delta$ )は、Figure 15 に示されるように割り当てた。

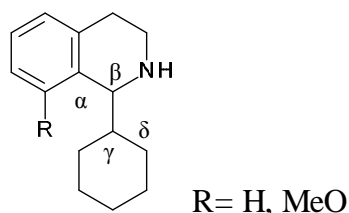


Figure 15. 8-メトキシテトラヒドロイソキノリンおよびテトラヒドロイソキノリン

47. Ogiyama, T.; Yonezawa, K.; Inoue, M.; Katayama, N.; Watanabe, T.; Yoshimura,

S.; Gotoh, T.; Kiso, T.; Koakutsu, A.; Kakimoto, S.; Shishikura, J. *Bioorg. Med.*

*Chem.* 2015, 23, 4638.

48. 化合物 29n と 29q は次の特許記載の方法に従って合成した。PCT Int. Appl.

WO2008143263, 2008. 化合物 29n (as a HCl salt):  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.27

(3H, brs), 7.49 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 7.21 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz), 7.04 (1H, dd,  $J$  = 2.1,

8.2 Hz), 2.92–3.06 (4H, m), 2.27 (3H, s); FAB MS  $m/z$  214 [M+H] $^+$ . 化合物 29q (as

a HCl salt):  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.43 (3H, brs), 7.65 (1H, dd,  $J$  = 5.5, 8.9 Hz),

7.34 (1H, d,  $J$  = 3.2, 9.7 Hz), 7.13 (1H, dt,  $J$  = 3.3, 8.7 Hz), 2.99–3.14 (4H, m); FAB

MS  $m/z$  218 [M+H] $^+$ .

49. Kosugi, M.; Sumiya, T.; Obara, Y.; Suzuki, M.; Sano, H.; Migita, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1987, 60, 767.
50. Gallou, I.; Senanayake, C. H. *Chem. Rev.* 2006, 106, 2843.
51. Carbone, E.; Sher, E.; Clementi, F. *Pflugers Arch.* 1990, 416, 170.
52. Hamill, O. P.; Marty, A.; Neher, E.; Sakmann, B.; Sigworth, F. J. *Pflugers Arch.* 1981, 391, 85.
53. Naritomi, Y.; Terashita, S.; Kimura, S.; Suzuki, A.; Kagayama, A.; Sugiyama, Y. *Drug Metab. Dispos.* 2001, 29, 1316.
54. Kim, S. H.; Chung, J. M. *Pain* 1992, 50, 355.
55. Watabiki, T.; Kiso, T.; Kuramochi, T.; Yonezawa, K.; Tsuji, N.; Kohara, A.; Kakimoto, S.; Aoki, T.; Matsuoka, N. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011, 336, 743.
56. Hunskaar, S.; Fasmer, O. B.; Hole, K. *J. Neurosci. Meth.* 1985, 14, 69.

## 謝辞

本論文の発表及び作成にあたり、終始懇切丁寧なご指導ご鞭撻を賜りました東京農工大学大学院工学府生命工学専攻生命有機化学講座 長澤和夫教授に心より御礼申し上げます。

本研究は、アステラス製薬株式会社研究本部化学研究所にて行われたものであり、アステラスリサーチテクノロジー株式会社 渡辺俊博博士のご指導に深謝いたします。

また本論文の作成にあたり、一方ならぬご支援を賜りましたアステラス製薬株式会社研究本部化学研究所 四月朔日晋博士に謹んで感謝申し上げます。

本研究の実施および遂行において、終始ご協力いただいたアステラス製薬株式会社研究本部化学研究所 穴倉淳一氏、井上誠博士、薬物動態研究所 米沢公一氏に心より感謝いたします。

探索研究段階にご尽力いただいた化学研究所 山田弘美博士、アステラスリサーチテクノロジー株式会社 本多集悟氏に心より感謝いたします。

各種薬理試験を行っていただきました薬理研究所 柿元周一郎博士、木曾哲男博士、後藤貴康博士、および薬物代謝試験を行っていただきました薬物動態研究所 小坏明子氏に心より感謝いたします。

絶対立体化学の決定にご協力いただいた技術本部物性研究所 吉村誠司博士、菅野幸人博士およびドッキング解析を行っていただきました研究統括部 片山直子氏に心より感謝いたします。

本論文の作成にあたり、有益なるご助言とご協力を賜りました恩田健一博士、永嶋信也博士、石井孝拓博士、新美達也博士ならびに化学研究所の皆様にも厚く御礼申し上げます。